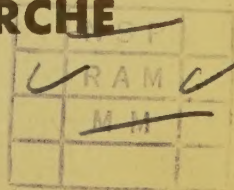


ANNALES DES ÉPIPHYTIES



**INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE
AGRONOMIQUE**



VOLUME 12 1961 NUMÉRO 1

AVIS AUX LECTEURS

La liste des Annales publiées par l'I.N.R.A. s'établit comme suit au 1^{er} janvier 1961 :

ANNALES AGRONOMIQUES. — Agronomie générale et science du sol — 6 fascicules par an.

ANNALES DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE. — 4 fascicules par an.

ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES. — 4 fascicules par an.

ANNALES DES ÉPIPHYTIES. — Pathologie végétale, zoologie agricole, phyto-pharmacie — 4 fascicules par an.

ANNALES DE L'ABEILLE. — 4 fascicules par an.

ANNALES DE ZOOTECHNIE. — 4 fascicules par an.

ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE. — 4 fascicules par an.

ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE. — 4 fascicules par an.

PUBLICATIONS RÉCENTES :

LA PHYSIOLOGIE DE L'INSECTE : Les grandes fonctions, le comportement, écophysiologie, par **R. Chauvin**. Un fort volume relié de 918 pages. 35 NF
Franco 38 NF

LA PHYSIOLOGIE DU VER A SOIE, par **J.-M. Legay**. Une plaquette
brochée 8 NF
Franco 8,50 NF

VIENT DE PARAÎTRE :

MALADIES A VIRUS DES PLANTES ET MÉTHODES DE LUTTE, par **P. Cornuet**. Un ouvrage in-8° cartonné de 440 pages 35 NF
Franco 38 NF

PROTECTION ACOUSTIQUE DES CULTURES ET AUTRES MÉTHODES D'EFFAROUCHEMENT DES OISEAUX, par **R.-G. Busnel** et **G. Giban**. Un ouvrage 17 × 24,5, cartonné de 240 pages 25 NF
Franco 28 NF

Les commandes d'ouvrages doivent être adressées au Régisseur des publications, 149, rue de Grenelle, Paris-VII^e.

Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des publications, par virement postal, à son compte courant : Paris 9064-43 ou par bons U. N. E. S. C. O.

**ANNALES
DES
ÉPIPHYTIES**



INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

LA MALADIE DE L'ENCRE DU CHATAIGNIER

I. — ÉTIOLOGIE ET BIOLOGIE

J. GRENTÉ.

*Laboratoire de Pathologie végétale,
Centre de Recherches agronomiques du Massif central, Clermont-Ferrand.*

PLAN DU MÉMOIRE

HISTORIQUE.

ÉTAT DE LA CHATAIGNERAIE.

ÉTIOLOGIE DE LA MALADIE DE L'ENCRE.

- I. — Symptômes.
- II. — Le Fioc.
- III. — Agent causal : le *Phytophthora*.
- IV. — Influence de la richesse du sol sur la maladie.
- V. — Influence de la température.

BIOLOGIE DU PHYTOPHTHORA.

- I. — Géotropisme du parasite.
- II. — Évolution des lésions sur le système racinaire.
- III. — Organes de dissémination.
- IV. — Parasitisme du *Phytophthora*.

DISCUSSION.

RÉSUMÉ.

BIBLIOGRAPHIE.

HISTORIQUE

Selon PABLO MERINO DE VARGAS (1) la maladie de l'Encre existe depuis 1726 dans les provinces espagnoles d'Avila, Salamanque et Cacérés, GIBELLI rapporte qu'en Italie, le châtaignier a subi des crises très graves depuis les premières décades du XVIII^e siècle.

La provenance de la maladie a fait l'objet de deux thèses contradictoires. Pour FENAROLI, elle serait originaire d'Amérique du Nord et aurait gagné l'Europe en pas-

(1) Cité par ELORRIETA.

sant par les Iles Açores. ELORRIETA n'admet pas cette origine exogène, car selon lui, elle ne permet pas d'expliquer l'apparition quasi-simultanée de l'Encre dans plusieurs pays éloignés les uns des autres, comme l'Italie et l'Espagne. Selon cet auteur, des germes auraient existé de tout temps sur place, dans les différents pays d'Europe, mais leur parasitisme et leur développement épidémique ne seraient apparus qu'à la suite de modifications du milieu qu'il ne précise pas.

Il est difficile d'opter entre ces deux hypothèses. La seconde fait appel à des phénomènes dont la réalité semble bien aléatoire. Cependant, si on adopte l'hypothèse de FENAROLI, il faut admettre que l'Encre existait en Amérique avant 1726 ; or, aux Etats-Unis, CRANDALL indique qu'elle n'est connue avec certitude que depuis 1824, (en Géorgie sur *C. ozarkensis*).

En France, on estime que l'Encre s'est introduite dans le Pays Basque, vers 1860, en provenance de la rive espagnole de la Bidassoa. En 1875, la transplantation près d'Aubenas de jeunes sujets venant des Basses Pyrénées permettait à la maladie d'infester les châtaigneraies ardéchoises, où elle allait causer de très importants dommages.

Depuis son introduction, le mal s'est largement répandu autour des premiers foyers. En France, la région Pyrénéenne a été envahie rapidement depuis la Haute-Garonne jusqu'au Médoc ; dans les Cévennes, l'Encre a gagné en peu de temps l'Ardèche, le Gard, la Lozère, l'Aveyron, l'Hérault ; le Limousin est atteint en 1900, la Corse l'est à son tour en 1925. Actuellement toutes les régions castanéicoles sont contaminées.

Dans les pays étrangers, l'Encre a pris une extension très large, particulièrement en Espagne dans les provinces du Nord-Ouest de la péninsule. En Italie, elle a également envahi la presque totalité de la Châtaigneraie. Aux Etats-Unis, à partir de la Géorgie, la maladie a gagné progressivement l'Arkansas, le Missouri, le Mississipi, l'Oklahoma, l'Alabama, le Tennessee, la Virginie, les Carolines.

Les dégâts occasionnés par l'Encre suscitèrent, dès la 2^e moitié du siècle, d'importantes recherches. Différentes hypothèses ont été émises.

La grande majorité des théories invoquent une cause parasitaire ; PLANCHON incrimine le pourridié agaric, DE SEYNES le *Torula exitiosa*, BRIOSI et FARNETTI le *Melanconis modonia* (forme conidienne : *Coryneum perniciosum*). DUCOMET incrimine le *Diplodina castaneae*, agent du Javart.

MANGIN pense que les mycorhizes normales du châtaignier seraient détruites par une Chytridiale : le *Mycelophagus castaneae*. Pour DELACROIX le champignon qui produit les mycorhizes attaquerait la plante à la faveur d'un déséquilibre de la symbiose, déséquilibre déterminé par des causes mal connues, probablement l'épuisement du sol.

La théorie physiologique a trouvé de tout temps un grand nombre d'adeptes. Ainsi, CORNU pense que le froid est seul responsable des dégâts. La thèse la plus en faveur invoque l'épuisement du sol ; elle est défendue successivement par GIBELLI, NAUDIN, HENRY, puis par MANGIN qui, en 1913, adopte la théorie mixte de DELACROIX.

La véritable nature de la maladie fut découverte par PETRI qui de 1913 à 1939, aborda la plupart des aspects du problème tant sur le plan théorique que sur le plan pratique. L'agent responsable : le *Blepharospora cambivora* (PETRI) fut rangé dans le genre *Phytophthora* par BUISMAN en 1927.

La découverte de PETRI fut confirmée par les travaux de DUFRENOY. Aux États-Unis, MILBURN, GRAVATT et CRANDALL isolèrent en 1932 une seconde espèce ; le *P. cinnamomi* ; le même parasite fut trouvé en 1938 par DAY en Grande Bretagne puis par URQUIJO en Espagne en 1947. La même année, PIMENTEL au Portugal trouve les deux espèces. Nous étudierons dans un autre mémoire la valeur de ces distinctions spécifiques.

ÉTAT DE LA CHÂTAIGNERAIE.

La châtaigneraie française a notablement regressé depuis la fin du XIX^e siècle ; elle occupe actuellement environ 140 000 ha soit à peine 40 p. 100 des surfaces couvertes en 1882 (355 000 ha). La production de châtaignes (861 000 qx n'est plus que le sixième de ce qu'elle était en 1890 (5 300 000). Dans cette réduction, la maladie de l'Encre joue le rôle principal. Des faits analogues ont été constatés en Espagne, où dans certaines régions (La Corûna) le châtaignier a disparu complètement, par suite de la seule action de la maladie de l'Encre. Aux États-Unis, la châtaigneraie des régions méridionales a regressé de façon importante par suite de l'action du *P. cinnamomi*.

L'utilisation des surfaces laissées libres par la disparition du châtaignier est difficile. Il est rarement possible d'y installer des cultures plus rémunératrices. Cet arbre s'accommode en effet de terrains particulièrement peu fertiles et arides, sur lesquels d'autres essences ne sauraient se développer. Dans certaines régions des Cévennes, les résineux se sont substitués au châtaignier, mais n'offrent pas pour la population rurale les avantages d'une production vivrière, d'un revenu annuel et de plus leurs peuplements denses et sans pare-feux constituent un danger d'incendie permanent.

L'intérêt du châtaignier est primordial tant pour la production du fruit (l'industrie française du marron glacé est la première du monde), que pour les utilisations industrielles : parquets, (la production a doublé entre 1954 et 1957), extrait tannant, pâte à papier. D'autre part, le maintien de la couverture forestière des Cévennes est capital pour l'hydrologie et la lutte contre l'érosion. Il faut donc que la châtaigneraie soit reconstituée.

Pour mener à bien cette reconstitution, il est nécessaire de produire par sélection des plants et des portes-greffes résistants à la maladie de l'Encre. Bien entendu, il fallait d'abord préciser un certain nombre de points de la biologie de la maladie. Les travaux exposés ont été effectués dans le cadre des recherches de la Station du Châtaignier de Brive dirigée de 1946 à 1959 par C. SCHAD, qui a fixé le programme de travail dans une note à l'Académie d'Agriculture de France.

ÉTIOLOGIE DE LA MALADIE DE L'ENCRE.

I. — SYMPTÔMES.

1^o Appareil aérien.

Reprenons d'abord la description donnée par DUFRENOY en 1930 : « Les châtaigniers montrent d'abord des feuilles jaunissantes et rabougries, qui ne forment plus que des entre-nœuds courts, et aux extrémités des rameaux, les feuilles paraissent

sent tassées en rosettes. Bientôt les pointes des branches se dessèchent, souvent d'abord sur la face ouest ou sud-ouest de l'arbre ; en dessous des branches dépérissantes, on met à nu une plage brunie de cambium irrégulièrement retrécie en triangle vers le haut et prolongée vers le bas, le long d'une ou plusieurs racines. »

Pour compléter cette description, nous ajouterons que les extrémités des branches d'une partie de la cime se dénudent dans leur portion sub-terminale ; les feuilles terminales, au lieu d'être dressées, prennent un port retombant et laissent apparaître les groupes de bogues qui terminent les branches. L'aspect des arbres malades est bien caractéristique, et se distingue de loin par le seul examen de la silhouette de la frondaison (fig. 1). Le flétrissement est particulièrement net pendant les périodes

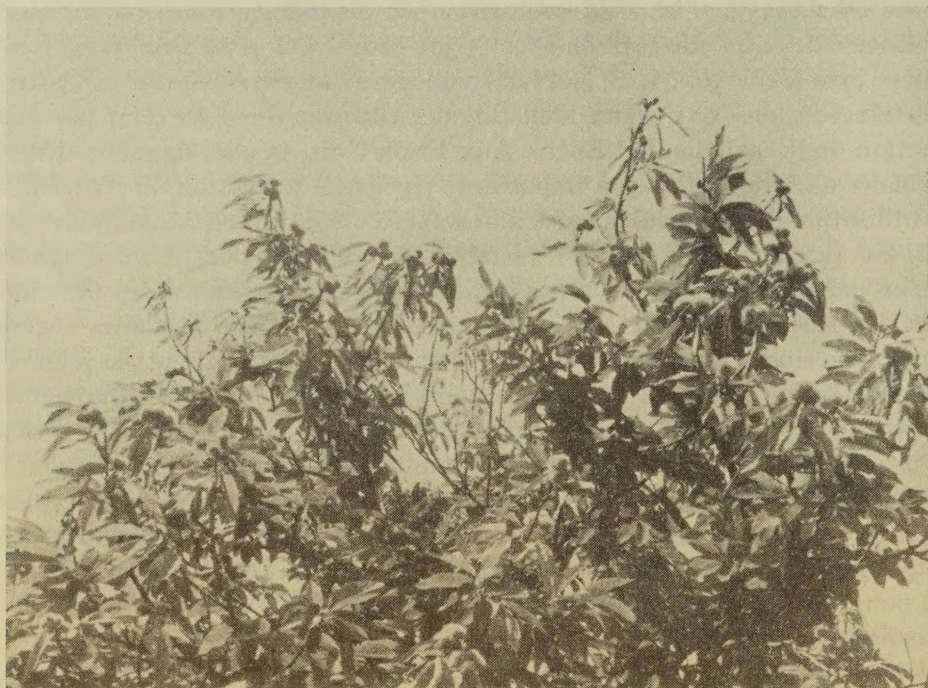


FIG. 1. — *Châtaignier atteint d'Encre : port retombant des feuilles de la cime*
(Collet de Dèze, Lozère).

de sécheresse et après les journées chaudes. Les feuilles sont toujours d'un vert pâle sans brillant, le jaunissement dont parle DUFRENOY est en général un signe d'attaque de Pourridié, et non de la maladie de l'Encre.

Les symptômes que nous venons de décrire sont caractéristiques d'une mauvaise alimentation en eau ; nous verrons plus loin qu'elle a pour origine l'altération du système racinaire. A un stade plus avancé, les branches meurent petit à petit en commençant par les extrémités les plus élevées, c'est ce qu'on nomme la « mort en cime ». L'arbre peut émettre des pousses de remplacement sur les grosses branches, le tronc ou la souche, mais il périt finalement quelques années plus tard. Si une branche meurt dans le courant de la végétation, ses feuilles ne subissent pas la chute automnale ; l'aspect de l'arbre en hiver est alors très particulier. (Fig. 2).

Certains auteurs, et en particulier G. COUDERC ont constaté, sur des arbres dépé-

rissants, un avortement des fleurs des châtons mâles, et l'ont attribué à la maladie. Les études de la biologie florale effectuées à la Station de Brive ne permettent pas d'adopter cette conclusion ; en effet, un certain nombre de variétés sont, à l'état normal, totalement dépourvues d'étamines : types astaminés (Sauvages des Cars de la Corrèze, Bouche Rouge d'Ardèche) ; et d'autres dits : brachystaminés, ont des étamines courtes à anthères mal formées ou avortées.

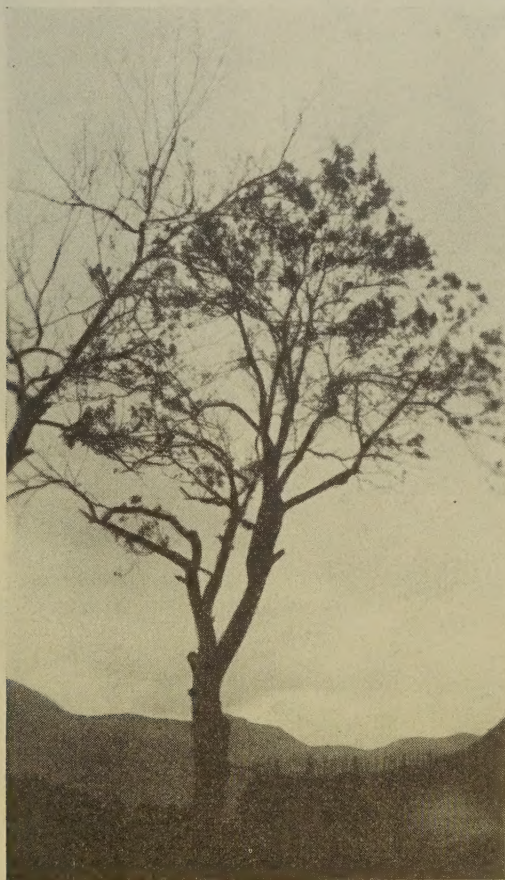


FIG. 2. — Aspect hivernal d'un châtaignier atteint d'Encre : les branches qui sont mortes pendant l'automne ont gardé leurs feuilles et leurs bogues (St Etienne de Boulogne, Ardèche).

Les fruits des arbres malades sont de petite taille ; comme ils sont mal nourris, ils perdent un certain nombre de leurs qualités alimentaires, et technologiques. Souvent, l'année qui précède la mort, l'arbre produit un très grand nombre de petits fruits sans valeur.

2° Appareil racinaire.

A la suite des prospections effectuées en 1950 et en 1951, on peut conclure que :

— Dans tous les cas où l'arbre manifeste sur son appareil aérien les symptômes de l'Encre que nous avons décrits, il y a sur l'appareil racinaire des lésions intéressant

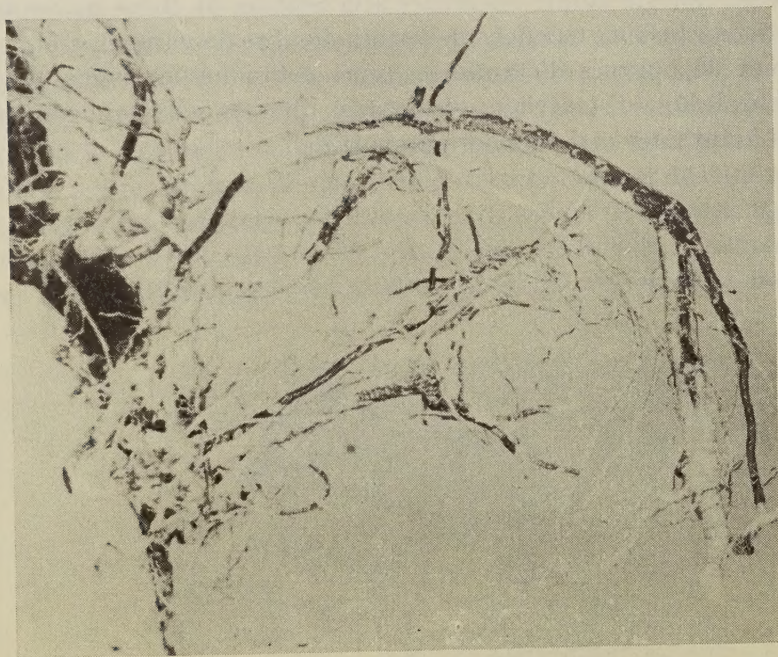


FIG. 3-4. — Lésions d'Encre sur le système racinaire de jeunes châtaigniers de 2 ans.
(pépinières de Brive).

les radicelles et les grosses racines ; on les trouve facilement sur celles qui sont situées à l'aplomb des branches malades.

— Les radicelles atteintes sont noires, avec une écorce molle en voie de décomposition, elles ne présentent pas de chevelu. Les racines de plus gros diamètre portent extérieurement des taches noires, dues à une altération de l'écorce et du cambium. Le bois n'est pas attaqué mais peut être coloré par la sève noire de l'écorce. L'altération du cambium se prolonge plus loin qu'on ne pourrait le croire d'après l'aspect extérieur de l'écorce. Souvent, plusieurs taches, apparemment distinctes, sont réunies entre elles par une altération continue du cambium. (fig. 3 et 4).



FIG. 5. — Coulure d'Encre à la base d'un châtaignier malade ; l'écorce a été enlevée pour montrer l'altération et le noircissement du cambium (Ailhon Ardèche).

— La plaie du collet décrite par DUFRENOY n'est pas un symptôme constant de la maladie (fig. 5). Nous verrons plus loin que la coulure d'Encre se produit lorsque l'altération des racines est remontée sur la base du tronc par évolution centripète. Elle s'extériorise lorsque la croissance diamétrale des parties saines a provoqué le déchirement de l'écorce qui recouvre les plages où le cambium est détruit. De ces déchirures s'épanche une sève colorée en noir par les substances phénoliques oxydées produites par les tissus atteints, en réaction contre le parasite. La coulure indique donc généralement que la maladie est en évolution depuis très longtemps. Les géli-

vures peuvent occasionnellement faciliter l'extériorisation des plaies du collet. Quelques fois la coulure se produit dès les premiers stades de la maladie, c'est en général le signe que la contamination a eu lieu près du collet (voir plus loin).

En 1951, nous avons étudié avec une attention particulière une zone d'Encre située à Vignols (Corrèze). Nous reproduisons ici, (fig. 6) le schéma du système radi-

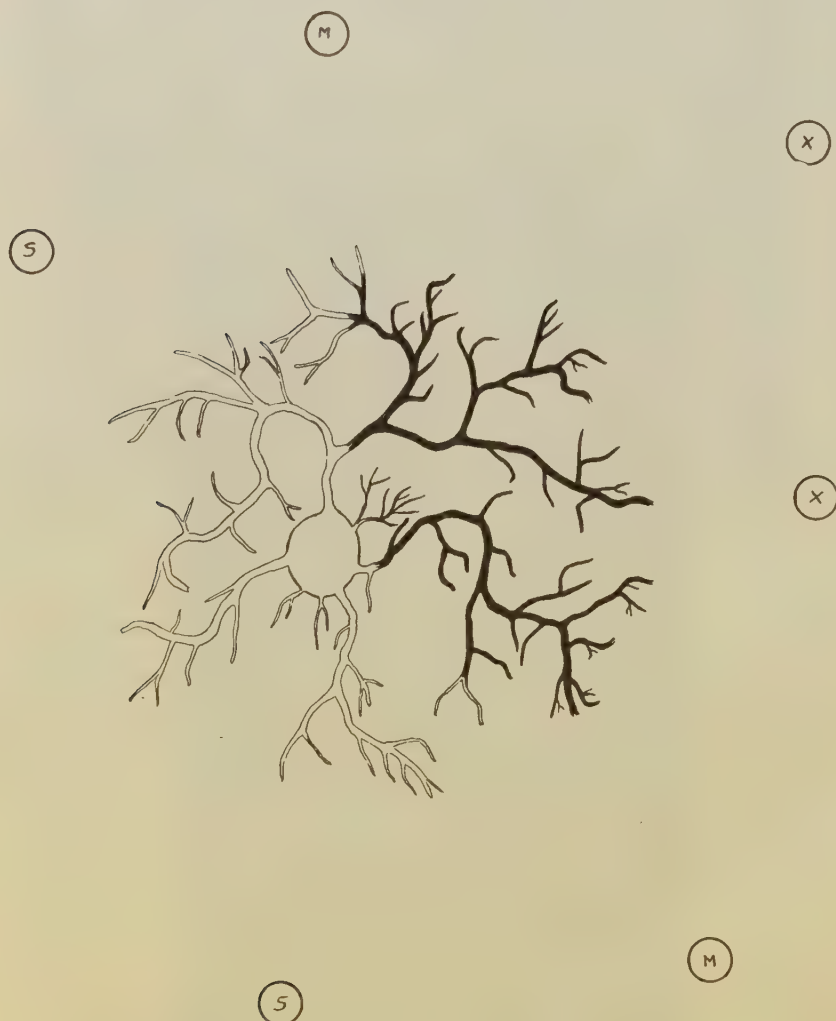


FIG. 6. — Schéma du système racinaire d'un châtaignier malade. En noir, les racines atteintes. Les arbres voisins sains sont indiqués par la lettre S, les malades par la lettre M et les morts par X (Vignols Corrèze).

culaire d'un arbre de 25 ans situé en bordure du foyer. Les lésions des racines sont figurées en noir. On remarquera que la maladie a envahi une grande partie de l'appareil souterrain et que les altérations sont très voisines du collet dans la zone S. W., orientée vers le centre du foyer.

II. — « LE FIOC ».

KUNHOLTZ LORDAT a décrit sous le nom de « Fioc » (terme cevenol signifiant « feu ») une forme de dépérissement, fréquente dans les prés irrigués et les combes humides des Cévennes.

En 1951, nous nous sommes attachés à examiner spécialement les arbres présentant les symptômes du Fioc. Au début, dans la partie basse de la couronne, on remarque quelques feuilles, qui pâlisent et passent du vert foncé au vert jaune. Le limbe reste plan ou légèrement fermé en V. Les branches basses sont les premières atteintes, plus tardivement les symptômes s'étendent à la partie moyenne et supérieure de la couronne. Au mois de juillet les rameaux présentent un bouquet terminal d'un vert plus ou moins délavé, et, en descendant vers la base, des feuilles virant progressivement du jaune au brun-roux se détachant du rameau prématurément. Les arbres prennent alors un aspect hivernal plus ou moins accentué. Les bogues situées à la partie terminale des branches atteintes sont nettement moins volumineuses que celles des arbres à feuilles bien vertes. Elles tombent souvent au cours de l'été.

Les racines portent des lésions comme dans le cas de l'Encre, mais on trouve fréquemment des filaments du pourridié agaric sur les lésions.

III. — AGENT CAUSAL : Le PHYTOPHTHORA.

1^o *Caractères microscopiques des lésions.*

Dans les racines atteintes l'examen microscopique permet de déceler un mycélium à contours très irréguliers dans l'écorce et le cambium (fig. 7).

Le mycélium est intercellulaire et envoie de gros suçoirs à l'intérieur des cellules parasitées. Sa détection est toujours difficile car la majeure partie des hyphes

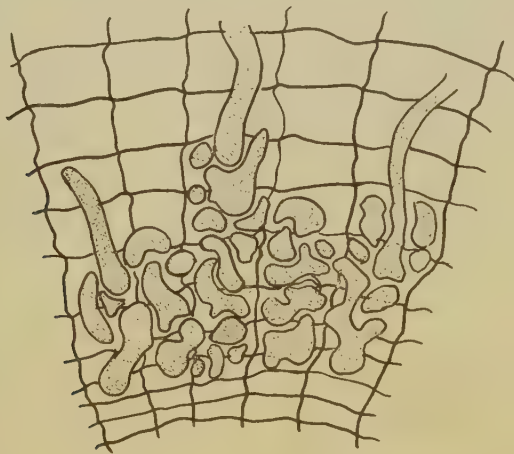


FIG. 7. — Schéma sommaire de la disposition du mycélium dans la région cambiale d'une racine atteinte.

est constituée par des tubes vides de protoplasme peu colorables et seules les extrémités en croissance sont vivantes. La deltapurpurine en solution aqueuse à 1 p. 100 se fixe fortement sur la membrane des tubes mycéliens, mais la meilleure façon de la mettre en évidence est de colorer au rouge Congo en solution aqueuse à 1 p. 100. Nous n'avons pas observé de formations particulières du mycélium dans les tissus tels que : chlamydospores, vésicules, organes sexuels.

2° Importance du *Phytophthora* dans le dépérissement.

Au cours de prospections effectuées en Ardèche et dans le Gard en 1951, il a été recueilli des échantillons de racines saines et de racines malades dans le but d'isoler les organismes pathogènes (1). Le tableau 1 résume le travail d'isolement.

TABLEAU 1.
Résultats des isolements.

	Nombre d'arbres ayant donné			
	Phytophthora	Isol. stériles	Racines avec filaments de pourridié	Total
Arbres présumés sains.....	1 (1)	36 (2)		38
Arbres présentant les symptômes d'encre.....	56 (a)	1		57
	6 (b)	1	3	7
			total général	102
(a) sans Fioc.....				
(b) avec Fioc.....				

(1) Isolements effectués dans les quelques racines malades trouvées sur les arbres apparemment sains.
(2) Isolements effectués dans les racines saines.

On peut constater que sur 38 arbres ne présentant pas de symptômes sur l'appareil aérien, 2 seulement ont quelques débuts d'attaque par les *Phytophthora* sur leurs racines. Sur les 64 arbres présentant des symptômes d'Encre, deux isolements seulement sont restés stériles. On remarque que dans le cas des symptômes de « Fioc » on peut isoler un *Phytophthora* mais que souvent les racines portent des filaments de pourridié agaric.

Les souches de *Phytophthora* isolées peuvent être classées en plusieurs types d'après l'aspect des cultures, la morphologie, et la physiologie du mycélium. Cette importante question sera étudiée en détail dans un autre mémoire. Dans le présent, nous dénommerons le parasite : *Phytophthora* sans préciser l'espèce en cause, les dénominations *P. cambivora* et *P. cinnamomi* ne sont données qu'à titre purement indicatif.

IV. — INFLUENCE DE LA RICHESSE DU SOL SUR LA MALADIE.

Un grand nombre de techniciens pensent que la maladie de l'Encre est favorisée par l'épuisement du sol ou provoquée par une carence. Cette opinion est en contradiction avec les observations des agriculteurs, celles des auteurs étrangers, et celles que

(1) Technique d'isolement.

On prélève des fragments d'écorce dans la marge des lésions en ayant soin de prendre une assez grande portion de tissu sain. La stérilisation superficielle peut être indifféremment pratiquée au bichlorure de mercure à 0, 1 p. 100 dans l'alcool à 10°, ou par l'Hypochlorite de calcium à 200° chlorométrique. La seule précaution à prendre est de faire un rinçage soigné à l'eau stérile.

On ensemence sur gélose-carotte, sur peptone glucosée (2 p. 100 de peptone et 2 p. 100 de glucose) ou sur gélose-prune. Lorsque les échantillons ont été conservés assez longtemps avant l'isolement et que les bactéries sont nombreuses, on peut additionner au milieu 2 000 UO de pénicilline et 10 000 de streptomycine par litre mais cette précaution est rarement indispensable. Les cultures sont placées à 23°. Le développement du *Phytophthora* est rapide et les colonies apparaissent en 2-3 jours sur peptone et 5-6 jours sur prune.

La proportion de transferts donnant lieu au développement d'une colonie de *Phytophthora*, varie de 10 à 80 p. 100 selon la vitalité du champignon et la présence éventuelle de saprophytes. Les repiquages doivent être effectués dès l'apparition de la colonie si l'on veut arriver à une culture pure. La purification est obtenue par les moyens habituels.

nous avons pu faire au cours de nos prospections. Pour préciser l'influence de la richesse du sol, nous avons fait des prélèvements de terre dans la plupart des cas où nous avons examiné le système racinaire d'arbres sains et malades.

Sur ces échantillons la Station d'Agronomie du C. R. A. du Massif-Central a déterminé le pH et la teneur en N. P. K. On peut faire les remarques suivantes :

Influence du pH. — Le châtaignier ne peut pas pousser dans les terrains calcaires ; selon certains auteurs, il ne supporterait pas plus de 5 p. 100 de calcaire. On pourrait penser qu'en pH alcalins, l'arbre placé dans des conditions difficiles est plus sensible à la maladie. Sur 96 déterminations de pH, nous trouvons deux arbres atteints d'Encre correspondant aux pH 7,8 et 7,9 ; par contre deux arbres sains correspondent aux pH 7,5 et 7,35. D'autre part pour les arbres malades, les pH s'étendent de 4,36 à 7,9 et pour les arbres sains de 4,35 à 7,5 la maladie peut donc exister à tous les pH et celui-ci ne détermine en rien son apparition.

Influence de la richesse en azote. — Sur 61 déterminations de N. P. K., la plus faible teneur observée : 0,01 et la plus forte : 29,07 correspondent toutes deux à des arbres malades ; parmi les autres teneurs importantes nous notons 6,59 et 4,9, correspondant toutes deux à des arbres malades. Aux teneurs 2,51 — 2,26 — 2,21 — 2,16 — 2,09 correspondent 2 arbres malades et 3 arbres sains ; aux teneurs comprises entre 1 et 2 correspondent 19 arbres malades et 14 sains. Aux teneurs inférieures à 1 correspondent 9 arbres sains et 12 malades. Ces proportions ne diffèrent pas sensiblement de la moyenne générale : 60 p. 100 de malades, la teneur en azote n'est donc pas liée à la maladie.

Teneur en P et K. — Des observations analogues pourraient être faites. La richesse du sol en ces éléments ne semble donc pas avoir d'influence sur la maladie.

On peut, conclure de ces analyses qu'il n'y a pas carence en un élément majeur.

Reste l'hypothèse d'une carence en un oligoélément.

N'ayant pas de résultats d'analyses en éléments oligodynamiques dans les terres à châtaignier, on ne peut apporter de preuves directes ni dans un sens ni dans un autre. Nous remarquerons seulement que les châtaigniers dépérissent dans les sols d'origine géologique fort variée, et que dans le cas d'arbres cultivés dans des jardins ou aux abords des habitations, les cultivateurs ont de tous temps essayé diverses spécialités contenant des oligoéléments, sans voir la maladie regresser pour autant. De plus, rien dans les symptômes ne fait penser à une maladie de carence ; il n'y a ni nécroses, ni décoloration des feuilles, ni anomalies de croissance pour faire songer à une cause de cette nature.

En présence d'un parasite aussi virulent que le *Phytophthora* la logique commande de rejeter résolument la thèse de l'influence déterminante d'une carence, thèse qui ne s'appuie sur aucun fait précis.

V. — INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE.

1° *Au laboratoire.* — Les exigences thermiques des diverses espèces de *Phytophthora* servent à la taxonomie du genre, nous en discuterons donc en détail dans le mémoire spécialement consacré à l'étude mycologique du parasite. Nous indiquerons seulement ici, que, pour les souches isolées en France, la croissance du *P. cinnamomi* in vitro, sur les milieux gélosés ou liquides, a lieu depuis 14-15° C jusqu'à 35° avec

un optimum variable selon les souches, mais se trouvant vers 27°. Pour le *P. cambivora*, elle peut se faire à des températures plus basses, de 8-10° C à 35°. L'optimum se situe entre 18 et 24° selon les origines. Toutes ces données sont valables pour des températures constantes.

L'influence de la température sur le développement du parasite in vivo a été étudiée également au laboratoire.

Dans une expérience préliminaire, effectuée en automne on a mesuré la vitesse de développement du *Phytophthora* sur des fragments de rameaux de *C. sativa* (1). Avec la souche de *P. cinnamomi* A 9 et la souche de *P. cambivora* B4 on a obtenu les résultats suivants :

TABLEAU 2.

*Inoculations sur rameaux de châtaigniers maintenus en survie,
Diamètre des lésions en mm au bout de 6 jours.*

Température	P. Cinnamomi A 9	P. Cambivora B 4
16°	35	
17	42	43
19	48	
21	56	
22	65	46
24	66	69
27	66,5	
28	60	56
29	53	
30	40	27

Dans la même expérience, sur des rameaux placés à l'extérieur à température variant de 9 à 22° avec une moyenne de 15°, il n'y a pas eu d'évolution des lésions. La température minima du développement se situe donc au-dessus de 15°.

2° Dans les conditions naturelles.

La température influe la marche de l'infection selon une loi complexe, où chaque période de temps passé à une température donnée, exerce une action proportionnelle à la durée de cette période, et à la vitesse du développement du parasite à la température considérée. L'action de chaque période s'ajoute à celle de la période précédente. Une loi précise pourrait être tirée des observations si on connaissait la vitesse de développement du champignon in vivo à chaque température. Il faudrait pour être rigoureux, tenir compte de l'état physiologique de l'organe considéré, car il paraît probable que les mouvements de sève influent fortement sur le comportement des tissus.

Dans une première approximation, on peut considérer que seules les températures égales ou supérieures à 16° permettent la croissance du parasite in vivo.

Dans des inoculations effectuées à l'extérieur sur rameaux de *Juglans regia*, nous avons remarqué que pendant les périodes froides au début du printemps, il

(1) Les rameaux étaient maintenus en survie dans la mousse humide et placés à l'étuve à température constante. L'inoculation était faite en déposant une goutte d'inoculum (culture sur gélose peptone semi-fluide) sur le cambium mis à nu par enlèvement d'une rondelle d'écorce de 8 mm de diamètre.

fallait attendre au moins 8 jours avant de pouvoir déceler un début de développement des lésions.

Certaines inoculations, pratiquées en Avril, ne donnent pas lieu à une lésion. Nous avons donc cherché à savoir quelle quantité de chaleur était nécessaire à l'établissement de l'infection.

Pour analyser l'influence des températures variables on a décompté le nombre d'heures où la température est supérieure à 16° pour un certain nombre de périodes d'évolution des lésions, tableau 3. On a pris en considération les 8 premiers jours d'incubation seulement.

TABLEAU 3.

Nombre d'heures à plus de 16° C nécessaire à l'établissement de l'infection.

Période	Nombre d'heures au-dessus de 16°	Résultats de l'inoculation (diamètre des lésions)
Du 8 avril — 15 avril	34	0
18 avril — 25 avril	25	0
28 avril — 5 mai	26	0
14 mai — 21 mai	70	2,5
20 mai — 27 mai	75	2,1
4 juin — 11 juin	75	3,1
17 août — 3 septembre	131	3,6
22 août — 5 septembre	148	5,8
7 sept. — 14 septembre	104	2,2

On voit donc que, pour que l'infection s'établisse, il faut que pendant les 8 premiers jours d'incubation la température dépasse 16° pendant au moins 60-70 heures. Les diamètres atteints par les lésions sont donnés à titre purement indicatif, car ils dépendent de l'évolution de la température pendant toute la période d'incubation.

Lorsque l'infection est établie, les abaissements de température ne tuent pas le parasite mais suspendent seulement son développement. Ainsi, pendant la période du 14 mai au 2 juin, après les 8 premiers jours où la température dépasse 16° pendant 70 heures, arriva une période de froid où, pendant 6 jours, la température moyenne fut inférieure à 15°, et où les minima atteignirent 4° ; la marche de l'infection n'en reprit pas moins lorsque la température redevint favorable.

Des faits analogues à cette reprise d'activité après un abaissement de température, sont rapportés par PETRI qui a même pu observer la présence de bourrelets cicatriciels à la marge des lésions d'Encre.

BIOLOGIE DU PHYTOPHTHORA.

I. — GEOTROPISME DU PARASITE.

PETRI avait observé qu'après inoculation sur le collet, le parasite se développait plus vite vers le haut que vers le bas. Certains auteurs (FENAROLI, FLORRIETA) interprètent cette observation comme une preuve de géotropisme négatif. Pour

étudier cette question, nous avons fait au laboratoire des cultures sur tubes de milieu gélosé transparent, tenus verticalement soit en position normale soit à l'envers. Dans les deux cas, le mycélium se développe profondément dans la gélose, qu'elle soit au-dessus ou au-dessous du point d'ensemencement, et un léger mycélium aérien recouvre sur quelques millimètres les parois de verre sans être influencé par la position du tube. Il ne peut donc être question d'un géotropisme du mycélium. Les observations de PETRI sont certainement dues à des différences de sensibilité entre la tige et la racine.

Nous avons donc pratiqué en juillet 1959 des inoculations sur de jeunes châtaigniers de semis âgés de 4-5 mois, et nous avons mesuré le développement des lésions dans les deux sens (tableau 4).

TABLEAU 4.
*Développement des lésions vers le haut et vers le bas (en mm.)
sur châtaigniers de semis.*

Plante n°	Inoculation sur tige 5 cm au-dessus du collet		Inoculation sur racine 2 cm au-dessous du collet	
	Développement		Développement	
	Vers le haut	Vers le bas	Vers le haut	Vers le bas
1 ⁽¹⁾	0	0	15	20
2 "	20	20	20	35
3 ⁽²⁾	0	0	0	50
4 "	0	5	75	20
5 "	10	10	40	50
6 "			25	25
7 "			90	40
8 "			90	40
9 "			15	30
10 "			0	15
11 "			20	30
12 "			0	55
13 "	0	15		
14 "	10	60		
15 "	30	80		
16 "	0	45		
17 "	20	25		
18 "	70	110		

(1) *P. cambivora* : B 4 jours d'évolution : 17 jours.

(2) *P. cinnamomi* : A 9 jours d'évolution : 31 jours.

On voit donc que dans ces expériences le parasite ne se développe pas préférentiellement vers le haut, mais au contraire a tendance à se développer plus vite vers le bas sans qu'il s'agisse d'une règle absolue. Dans d'autres expériences effectuées en serre, on a obtenu des résultats opposés, ce qui laisse supposer que les conditions de milieu influent fortement sur le sens de progression du parasite et permet d'expliquer les résultats obtenus par PETRI.

Des études sont encore nécessaires pour préciser les conditions de développement

de l'infection. Nous verrons que cette question est très importante pour la bonne marche du travail de sélection de plants résistants.

II. — ÉVOLUTION DES LÉSIONS SUR LE SYSTÈME RADICULAIRE.

La question du géotropisme et de la sensibilité différentielle de la racine et du tronc nous mène à discuter du mode de développement des lésions sur le système radiculaire. Selon PETRI, dans les conditions naturelles, le collet est atteint de façon préférentielle, et souvent les racines sont attaquées dans leur portion proximale alors qu'elles sont encore saines dans leur partie distale. Selon URQUIJO, si on trouve des fines racines en état de décomposition, cela est dû au fait que des lésions situées plus haut les coupent de leur communication avec l'appareil aérien.

Ces auteurs sont donc amenés à nier toute possibilité de contagion d'arbre à arbre par contact des racines.

Nous n'adopterons ni les conclusions de PETRI ni les interprétations d'URQUIJO pour les raisons suivantes :

1° Dans des expériences faites *in vitro* sur de jeunes germinations de *Juglans regia* et de *Castanea sativa*, nous avons réussi à infecter de jeunes racines en structure primaire, et également des racines en structure secondaire recouvertes d'une assise subérisée, sans pratiquer de blessure ; montrant ainsi la sensibilité des radicelles.

2° A la suite des prospections faites en 1951, nous avons isolé à plusieurs reprises, soit le *P. cambivora*, soit le *P. cinnamomi*, de radicelles naturellement infectées, dont le diamètre était de 3 mm ; les fines racines hébergent donc bien le *Phytophthora*.

Nous pouvons conclure que le parasite peut infecter le système radiculaire de châtaigniers en commençant par les fines radicelles. Nous trouvons une confirmation de ce fait dans l'observation de la figure 6, schéma du système radiculaire d'un châtaignier situé en bordure d'un foyer d'Encre en Corrèze. Il est difficile d'expliquer la répartition des lésions sur les racines de cet arbre autrement que par une infection ayant débuté sur les petites racines périphériques. Le système radiculaire fasciculé est en grande partie atteint alors que le collet est resté sain. L'arbre est cependant dans un état de dépérissement très avancé, ce qui est dû à la disparition presque complète du chevelu.

La marche de l'infection sur le système radiculaire peut donc suivre une évolution centripète ; dans ce cas on constate un dépérissement lent, et l'arbre ne meurt qu'au bout de plusieurs années : cette forme de dépérissement est la plus fréquente.

On observe souvent une longue survie des arbres attaqués ; ce phénomène est dû à la formation de jeunes radicelles absorbantes sur les parties encore saines du système radiculaire. Cette reconstitution du chevelu vient compenser, dans une certaine mesure, la perte subie à la périphérie du système radiculaire. Quelques unes de ces radicelles de remplacement, formées au voisinage du collet, sont représentées sur la figure 6. Dans le cas d'arbres recépés depuis quelques années, comme nous en avons fréquemment examinés dans les taillis de la région de Pompadour (Corrèze) et Prades (Ardèche), on peut constater une abondance particulière de ces radicelles tout autour du collet. Sur ces souches, des rejets partent généralement de points situés bien au-dessous du niveau du sol, ils se courbent à leur base et émettent des

racines adventives sur tout leur trajet souterrain. La reformation de système radicaire absorbant est si active que la survie de l'arbre peut être très longue et atteindre 5 à 6 ans, malgré l'incessante destruction de radicelles provoquée par le *Phytophthora*. Ce phénomène a d'ailleurs fait croire un moment que la maladie n'atteignait pas les taillis. De toutes façons, l'Encre finit par avoir raison de la vitalité de la souche dans un délai plus ou moins long.

Si le mode de développement des lésions que nous venons de décrire est plus fréquent, il existe cependant d'autres modalités de développement. Lorsque l'attaque a lieu près du tronc, il faut peu de temps à la maladie pour encercler complètement le collet et provoquer une coulure d'Encre ; la mortalité est alors plus brutale, (ce cas est assez rare en France). Cette forme d'évolution correspond à des contaminations du collet ou des grosses racines, à la faveur de blessures occasionnées par les outils de culture (cas fréquent dans la maladie de l'Encre du noyer).

3° *Évolution de la maladie dans les châtaigneraies*. La maladie de l'Encre est réputée pour se répandre « en tache d'huile », gagnant les arbres de proche en proche. Cette modalité d'expansion peut être facilement observée dans les châtaigneraies des Cévennes et du Limousin. La figure 6 illustre ces observations.

En s'éloignant du centre du foyer, on trouve successivement tous les stades de la maladie, depuis les arbres morts jusqu'aux châtaigniers présentant seulement une légère perte de vigueur des pousses de la cime, avec tous les intermédiaires entre ces deux extrêmes.

La propagation de proche en proche n'est pas la seule qui puisse être observée. Souvent, le foyer essaima à distance de 50 à 100 m., et il se constitue un autre foyer qui ne tarde pas à se joindre au premier au bout de quelques années. G. COUDERC avait observé que cet essaimage se fait dans le sens du vent dominant. Nous avons examiné à de nombreuses reprises, au cours des 8 dernières années, les châtaigniers atteints de la région de Vignols, près de Brive, nous avons pu constater que l'essaimage se fait souvent dans la direction des vents dominants, (vent d'ouest) mais qu'il peut se faire dans toute autre direction, en particulier vers le bas des pentes.

La vitesse de développement des foyers est très variable selon les années, elle est maximale les années humides alors que la mortalité des arbres est beaucoup plus importante en année sèche. La maladie procède donc par poussées successives : les années pluvieuses, de nouveaux arbres sont atteints, et les années sèches, la plupart des arbres atteints auparavant se dessèchent et meurent, au cours des périodes de grande chaleur.

III. — ORGANES DE DISSÉMINATION.

Nous avons signalé plus haut des observations relatives à l'essaimage des foyers à une certaine distance. Cette question nous amène à étudier les organes de dispersion du parasite. Les *Phytophthora* possèdent des spores de dissémination et de conservation de plusieurs types ; les zoosporanges producteurs de zoospores nageantes sont connues chez les deux espèces : *P. cambivora* et *P. cinnamomi*, les œufs le sont également. De plus, dans le cas du *P. cinnamomi*, on connaît des spores de conservation : les chlamydospores. On peut aussi penser que le mycélium joue un rôle dans la dispersion et la conservation de la maladie.

1^o Les sporanges.

En 1951, nous avons prélevé du terreau sous des châtaigniers malades, et nous l'avons placé en atmosphère humide, à la température de 18-20°. Nous avons examiné fréquemment des fragments de ce terreau, soit à la loupe binoculaire, soit au microscope, dans le but de chercher l'apparition de sporanges du parasite, mais nos tentatives sont toujours restées vaines.

D'autre part les essais entrepris pour obtenir, en cultures pures les sporanges des souches de *Phytophthora* isolées en France, ont été extrêmement décevants. Dans le cas du *P. cambivora* on a pu obtenir quelques sporanges dans de très rares occasions, par culture sur eau distillée et sur milieux d'inanition (1). Dans le cas du *P. cinnamomi*, nous avons pu obtenir les sporanges sur de jeunes radicules provenant de châtaignes en germination, mais uniquement en milieux non stériles. Ces résultats sont à rapprocher de ceux de MEHRLICH.

Notons que MOREAU a beaucoup de difficultés à obtenir les sporanges du *P. cinnamomi* isolé de chênes atteints d'une maladie analogue à l'Encre dans les Basses-Pyrénées ; il n'a réussi qu'en employant une technique faisant appel à un courant continu d'eau de pluie.

Cette question mérite de nouvelles études, car le rôle des sporanges dans la dissémination a toujours été avancé sans recevoir de preuves irréfutables.

2^o Les oospores.

Les oospores sont plus des organes de conservation que de dissémination. Elles pourraient éventuellement jouer un rôle dans l'essaimage des foyers, si on admet qu'elles peuvent être transportées avec des particules de terre soit par ruissellement superficiel, soit par l'action de l'homme et des animaux. La résistance des œufs à la dessiccation permet d'envisager ce mode de transmission. Les œufs du *P. cambivora* peuvent se former dans les radicules de châtaignes en germination, où PETRI et URQUIJO les ont observés ; dans le terreau de châtaigneraie, nous avons observé, en 1951, des organes arrondis pourvus d'une membrane épaisse, qui pourraient bien être des oospores mais pourraient aussi être des chlamydospores ; de toutes façons nous ne les avons pas isolés, si bien que leur appartenance au *Phytophthora* reste à prouver.

Les oospores des espèces *P. cambivora* et *P. cinnamomi* se forment régulièrement dans les cultures associées de ces espèces avec *P. parasitica* et *P. cryptogea* respectivement. Ce caractère est utilisé pour la taxonomie, aussi y reviendrons-nous plus longuement dans un autre mémoire. Nous n'avons pas observé jusqu'à présent la formation d'oospores dans les radicules de châtaignier ou de noyer inoculées avec aucune de nos souches, si bien que la question mérite de nouvelles recherches.

Les conditions de germination des oospores sont mal connues et des recherches dans ce sens sont en cours.

3^o Les chlamydospores.

Comme les œufs, ce sont aussi des organes de conservation, elles se forment en abondance sur le mycélium des souches de *P. cinnamomi*, dans les milieux riches, au bout de plusieurs semaines de culture. Dans la nature, elles jouent

(1) Voir LÉONIAN.

certainement un rôle dans la dissémination. Il est important de distinguer les vésicules à membrane mince des vraies chlamydospores, dont la paroi est épaisse et qui sont séparées du tube mycélien par une cloison.

4° *Le mycélium.*

Le mycélium vit en saprophyte sur les particules de matière organique du sol, pendant toute la belle saison ; il peut donc se maintenir en croissance, et ainsi pourrait s'expliquer la contagion en tache d'huile dans les châtaigneraies. Il pourrait aussi être transporté avec les particules de terre sur de grandes distances par l'homme et les animaux.

Dans la terre des châtaigneraies infectées, on peut trouver du mycélium de *Phytophthora* que, selon certains auteurs on peut isoler en culture, pure, soit par la technique habituelle de dilution et d'ensemencement sur la plaque de gélose, soit par la technique employée par CAMPBELL pour l'étude du *P. cinnamomi* dans le sol. C'est ainsi qu'en 1950, VILLAX aurait isolé à plusieurs reprises des souches de *Phytophthora* de châtaigneraies de l'Ardèche et de Corrèze et même d'anciennes plantations où les châtaigniers étaient disparus depuis plus de 20 ans. Les quelques essais que nous avons fait dans le même sens ne nous ont pas donné de résultats sûrs ; les cultures que nous avons obtenues étaient souillées de mucorales à un point tel qu'il a été impossible de les purifier, et que la certitude d'avoir affaire à des *Phytophthora* n'a jamais été acquise. Là encore de nouvelles recherches sont à entreprendre. Nous avons pu isoler le *Phytophthora* du sol en utilisant de jeunes plantules élevées en milieux aseptiques et dont les racines plongent dans l'eau stérile. Il suffit d'ajouter un peu de terre à cette eau pour obtenir des lésions sur les racines, d'où il est facile d'isoler le parasite, mais on ne peut être certain de l'organe (mycélium — sporangie ou chlamydospores) qui a provoqué la maladie.

IV. — PARASITISME DU PHYTOPHTHORA.

Le parasitisme des *Phytophthora* sur les racines de châtaignier et d'autres plantes a été prouvé d'une part dans des expériences in vitro sur de jeunes germinations aseptiques, et d'autre part, dans le travail de sélection de plants résistants, où des inoculations en grand nombre sont faites sur des arbres de tous âges.

1° *Inoculations sur germinations.*

On a utilisé de jeunes plantules de châtaignier. (*C. sativa*) ou de noyer (*J. regia*), et un appareillage voisin de celui décrit par PETRI. Les châtaignes et les noix, stérilisées superficiellement, sont mises à germer dans des tubes de verre ou de matière plastique, séparés en deux compartiments par un étranglement ; la partie inférieure est garnie d'eau stérile. L'inoculation est faite par une tubulure latérale qui permet de déposer une goutte d'inoculum sur la racine.

Nous avons effectué des contaminations avec des souches de *P. cinnamomi* et *P. cambivora* en 3 localisations différentes.

1° Sur l'extrémité de la racine au niveau de la coiffe 2° dans la zone des poils absorbants ; 3° au-dessus des poils absorbants. Des témoins recevaient une goutte de gélose sans *Phytophthora*.

Toutes les inoculations ont été suivies de succès dans les trois localisations, aussi bien sur noyer que sur châtaignier, dans les expériences réalisées de façon aseptique, les témoins sont restés sains, le parasite inoculé a pu être facilement réisolé. L'évolution est rapide ; à 23° les lésions progressent en moyenne de 10 à 12 mm par jour.

2° Inoculation sur jeunes plants en pépinière.

Dans les travaux de sélection de plants résistants, on pratique des inoculations sur des semis à l'année par une technique que nous décrirons dans un mémoire consacré aux méthodes de lutte. Ces travaux de contamination artificielle sont faits chaque année sur plusieurs dizaines, parfois plusieurs centaines, de milliers de jeunes plants. La proportion de plantes qui contractent la maladie à la suite de ces inoculations varie, selon le degré de résistance de la descendance inoculée, entre 2 p. 100 et 99 p. 100. Ces résultats prouvent amplement la virulence du parasite.

DISCUSSION.

La maladie de l'encre apparaît donc comme une très ancienne affection de la châtaigneraie européenne. Sa nature parasitaire ne fait plus de doute ; les conditions de sol si souvent invoquées par les techniciens pour expliquer la maladie ne jouent qu'un rôle tout à fait secondaire. L'Encre sévit aussi bien dans les sols très acides que dans les terres à la limite de l'alcalinité, elle est aussi grave dans les sols riches en azote, potasse, acide phosphorique, que dans ceux qui sont pauvres en ces éléments.

Si la cause de la maladie est bien connue, les *Phytophthora* parasites nous montrent, par contre, un polymorphisme qui nous conduira à étudier l'aspect taxonomique de la question dans un autre mémoire. Au moins deux espèces peuvent être incriminées : le *P. cambivora* et le *P. cinnamomi*.

La biologie du *Phytophthora* comporte encore bien des points obscurs, en particulier sur les moyens de dissémination, la vie saprophytique dans le sol, la reproduction sexuée. Les facteurs externes sont par contre mieux connus, et en particulier l'action de la température.

Le problème de la marche de l'infection sur le système racinaire ne semble pas devoir appeler de nouvelles discussions ; le désaccord qui nous oppose aux auteurs qui considèrent que, seul, le collet est sensible, s'explique par le fait que ces derniers n'ont pas effectué suffisamment d'isolements dans les fines racines. La virulence du parasite a été prouvée par un grand nombre d'expériences diverses, au cours desquelles on a pu s'apercevoir que les racines pouvaient être attaquées par plusieurs espèces de *Phytophthora*, dont certaines ne semblent pas être parasites dans les conditions naturelles. Ce qui pose une fois de plus le problème de la valeur des distinctions spécifiques dans le genre *Phytophthora*.

Reçu pour publication le 26 septembre 1960.

RÉSUMÉ.

1° La maladie de l'Encre du châtaignier existe en Europe depuis les premières décades du XVIII^e siècle. Il semble qu'elle se soit introduite en provenance d'Amérique et en passant par les Açores.

2° Les dégâts occasionnés ont été extrêmement importants, et la maladie a contribué fortement à la régression de la châtaigneraie, dans la bordure orientale du Massif-Central ainsi que dans l'ouest et le sud-ouest.

3° La cause de la maladie n'a été élucidée qu'en 1917, par les travaux de PETRI, qui mirent en évidence le parasitisme du *Phytophthora cambivora*. Une autre espèce le *P. cinnamomi* est également en cause.

4° L'étude de la maladie en France, effectuée depuis 1951, fait ressortir sa grande dispersion et le rôle prépondérant des *Phytophthora* dans son étiologie. L'étude effectuée a porté sur une centaine d'arbres atteints et a permis d'isoler une quarantaine de souches du parasite.

5° Les conditions du sol apparaissent sans action sur la maladie ; il ne peut y avoir d'influence favorisante d'une carence en un élément majeur. L'hypothèse d'une carence en un oligoélément semble peu vraisemblable.

6° La maladie se développe depuis 15° C. jusqu'à 30-35°, avec un optimum entre 24° et 28° C. L'étude de l'influence de la température sur la marche de l'infection montre qu'il faut une certaine quantité de chaleur pour déclencher l'envahissement des tissus par le parasite.

7° Le géotropisme du *Phytophthora*, avancé par certains auteurs, n'a pas pu être démontré ; le champignon est entièrement indifférent à son action. Sur les organes atteints, le parasite se développe vers le haut comme vers le bas, étant en cela influencé surtout par l'état physiologique de la plante.

8° Le parasite envahit le système racinaire des châtaigniers en commençant par les fines radicelles, et suit une évolution centripète qui l'amène au collet, puis sur la partie inférieure du tronc. Dans les plantations, la maladie évolue en tache d'huile, avec souvent des essaimages à courte distance.

9° Les organes de dissémination sont mal connus. Les oospores ont pu être obtenus dans les cultures associées et leur formation sera décrite dans un autre mémoire.

10° Le parasitisme a été prouvé par différentes expériences d'inoculation.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BRIOSI G., FARNETI R., 1911. Riproduzione artificiale della moria dei castagni. *Rend. R. Acc. Lincei.*, **20**, 628-633.
- CAMPBELL W. A., 1949. A method of isolating *Phytophthora cinnamomi* directly from soil. *Plant Dis. Rept.*, **33**, 134-135.
- CORNU. In DELACROIX, MAUBLANC, *Les maladies des plantes cultivées*.
- COUDERC G., 1921. Maladie du châtaignier dite de l'Encre. *Ann. Soc. Bot. Lyon.*, **42**, 24-26.
- CRANDALL B. S., 1950. The distribution and significance of the chesnut root rot *Phytophthoras*, *P. cinnamomi* and *P. cambivora*. *Plant. Dis. Rept.*, **34**, 194-196.
- DAY W. R., 1939. Root rot of sweet chesnut and beech caused by species of *Phytophthora*, II. Inoculation experiments and methods of control. *Forestry.*, **13**, 46-58.
- DELACROIX G., 1897. La maladie des châtaigniers en France. *Bull. Soc. Myc. France.*, **13**, 242.
- DUCOMET V., 1911. Nouvelles recherches sur les maladies du Châtaignier. *Ann. Ec. Nat. Agr. Rennes.*, **5**, 1-64.
- DUFRENOY J., 1926. La vie parasitaire et la vie saprophytique des *Phytophthora*. *Rev. Gen. Sci.*, **37**, 146-149.
- ELORIETTA J., 1949. El Gastano en Espana. Madrid.
- FENAROLI L., 1945. Il Castagno. Roma.
- GIBELLI G., 1883. Nuovi studi sulla malattia del castagno detta dell'inchostro. *Mem. Acc. sc. Bologna*.
- KUHNHOLTZ-LORDAT M., 1944. Considérations générales sur le dépérissement des châtaigneraies cevenoles et suggestions d'ordre pratique qui peuvent en découler. *Ann. Epiph.*, **10**, 25-53.
- LEONIAN L. H., 1927. The effects of different hosts upon the sporangia of some *Phytophthoras*. *Phytopathology.*, **17**, 483-490.
- MANGIN L., 1902. La maladie des châtaigniers. *Agr. Prat.*
- MANGIN L., 1913. La maladie du châtaignier en France. *Ann. Serv. Epiph.*, **1**, 80-86.
- MERHLICH F. P., 1935. Non sterile soil leachate stimulating to zoosporangia production by *Phytophthora* sp. *Phytopathology.*, **25**, 432-435.
- MILBURN M., GRAVATT G. F., 1932. Preliminary note on a *Phytophthora* root disease of chesnut. *Phytopathology.*, **22**, 977-978.
- MOREAU C., MOREAU M., 1951. Une grave affection nouvelle de la forêt française : la maladie de l'Encre du chêne. *C. R. Acad. Sci.*, **222**, 252-253.
- PETRI L., 1917. Ricerche sulla morfologia e biologia della *Blepharospora Cambivora*, parassita del castagno. *Rend. R. Acad. Lincei.*, **26**, 297-299.
- PIMENTEL A. A. L., 1947. A *Phytophthora cinnamomi* Rands, un outro agente extremamente virulento, da « deonca da tinta » do Castanheiro. *Agron. Lusit.*, **9**, 181-191.
- PLANCHON M. J. E., 1879. La maladie des châtaigniers. *C. R. Acad. Sci.*, 584.
- DE SEYNES Y., 1879. Sur une maladie des châtaigniers. *C. R. Acad. Sci.*
- URQUIJO L. P., 1947. Revision taxonomica de los hongos productores de la enfermedad del castano llamada de la « tinta ». *Bol. Pat. Veg. Ent. Agric.*, **16**, 253-270.

LA MALADIE DE L'ENCRE DU CHATAIGNIER

II. — LES AGENTS PATHOGÈNES : *Phytophthora cambivora* et *P. cinnamomi*

J. GRENTÉ

Laboratoire de Pathologie végétale,
Centre de Recherches agronomiques du Massif central, Clermont-Ferrand.

PLAN DU MÉMOIRE

HISTORIQUE ET CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.

MATÉRIEL ÉTUDIÉ.

ÉTUDE DES CARACTÈRES DISTINCTIFS DES ESPÈCES *P. CAMBIVORA* ET *P. CINNAMOMI*.

- I. — Morphologie du mycélium.
- II. — Exigences thermiques.
- III. — Formation des œufs en cultures couplées.
- IV. — Résistance au vert malachite.
- V. — Formation des sporanges.
- VI. — Développement sur le tubercule de pomme de terre et sur différents fruits.

AUTRES CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS.

- I. — Résistance à divers composés chimiques.
- II. — Influence du pH.
- III. — Réactions microchimiques des parois.

DISCUSSION.

RÉSUMÉ.

BIBLIOGRAPHIE.

HISTORIQUE ET CONSIDÉRATION GÉNÉRALES

Depuis les travaux de PETRI on sait que la maladie de l'Encre du châtaignier est due au parasitisme du *Phytophthora cambivora* (PETRI) BUISS. Cependant, il est utile de noter que 17 ans auparavant, J. M. GOICOECHEA attribuait déjà l'affection à un *Phytophthora* : le *P. castaneicola*. Malheureusement, le mémoire original nous

faisant défaut, il nous est possible de douter que cet auteur ait découvert le premier, le véritable agent de l'Encre. Nous laisserons donc à PETRI la priorité de la découverte de la cause du mal. Rappelons que le parasite avait été décrit sous le nom de *Blepharospira cambivora* PETRI que BUISMAN transféra dans le genre *Phytophthora* en 1927.

Postérieurement aux travaux de PETRI, une deuxième espèce, le *P. cinnamomi* RANDS, fut rencontrée par DAY en Angleterre en 1938. En 1945 MILBURN et GRAVATT identifièrent le *Phytophthora* isolé de châtaignier aux E. U. en 1932, au *P. cinnamomi* ; le même parasite fut ensuite signalé par PIMENTEL au Portugal en 1947 et, la même année par URQUIJO en Espagne. Le *P. cinnamomi* coexiste avec le *P. cambivora* au Portugal alors qu'en Espagne seule la première espèce a été trouvée ⁽¹⁾. En 1951, nos prospections effectuées dans les châtaigneraies de Corrèze et des Cévennes nous permettaient d'isoler les deux parasites.

L'existence de deux organismes distincts, provoquant des maladies en tous points identiques sur un même hôte, a depuis longtemps intrigué les auteurs. Certains, profitant de l'anarchie qui règne dans la taxonomie du genre *Phytophthora*, ont confondu les deux espèces en une seule : le *P. cambivora*. MEHRLICH propose cette synonymie dès 1936 ; WHITE en 1937 puis DAY en 1938, adoptent cette manière de voir dans leurs publications. Il en résulte une grande confusion dans la liste des hôtes des deux parasites et dans les données se rapportant à leur répartition géographique. Pour un autre groupe de pathologistes, le *P. cambivora* doit être distingué du *P. cinnamomi* ; c'est en particulier l'opinion de TUCKER, de PIMENTEL et d'URQUIJO. En 1952, nous avons indiqué que les deux espèces que nous considérons comme distinctes morphologiquement et biologiquement, étaient présentes en France, mais qu'il existait également des formes intermédiaires.

La situation s'est compliquée lorsque nous avons constaté qu'une de nos souches isolée de jeunes châtaigniers atteints d'Encre en pépinière, appartenait à une troisième espèce : le *P. megasperma* DRESCHSLER.

L'étude du dépérissement du noyer devait confirmer la multiplicité des *Phytophthora* parasites intervenant dans une même maladie. En effet, en 1952, nous avons pu constater que les noyers atteints de dépérissement portaient sur leurs racines des lésions noires analogues à celles provoquées chez le châtaignier par la maladie de l'Encre. Le parasite semblait être le *P. cinnamomi*. En 1957, on a isolé *P. cactorum* (LEBERT et COHN) SCHROETER de jeunes plantules de *Juglans nigra*. En 1959, plusieurs souches de *P. cinnamomi* ont été obtenues par isolement sur des *J. regia* de 4 ans cultivés en pépinière, et une souche de *P. cactorum* sur de jeunes plants cultivés en serre. Comme dans le cas du châtaignier, deux espèces seraient donc impliquées dans la maladie de l'Encre en France. Selon les auteurs étrangers la complexité serait encore plus grande. PETRI puis CURZI, en Italie, attribuent la pourriture des racines de noyer au *P. cambivora* ; aux E. U., SMITH et BARETT isolent le *P. cactorum* ; COOKSON, en Australie, le *P. parasitica* DASTUR ; PONTISVIDELA, en République Argentine, le *P. citrophthora* SMITH et SMITH ; CRANDALL et GRAVATT, aux E. U., trouvent le *P. cinnamomi* en 1945 ⁽²⁾.

Par ailleurs, les travaux entrepris sur la sexualité des *Phytophthora* nous ont

⁽¹⁾ Nous avons reçu récemment une souche de *Phytophthora* provenant de châtaigniers atteints dans la Sierra Nevada, que nous devons classer dans l'espèce *P. cambivora*.

⁽²⁾ Cette multiplicité des espèces pathogènes sur un même hôte n'est pas spéciale au châtaignier et au noyer puisque 5 espèces de *Phytophthora* sont susceptibles de provoquer la pourriture du collet des *Citrus*.

TABLEAU I

Souches de référence et souches étrangères.

Espèces et indicatif	Mycothèque et n°	Auteur	Hôte	Origine	N° des cultures
1) Souches de référence en provenance de mycothèques					
<i>P. cinnamomi</i> AF	C.M.I. 20. 561	FREZZI	<i>Pinus radiata</i>	Rep. Argentine	465-733-962
AE	C.M.I. 70. 473	M. JONES	<i>Erica</i>	(Gd. Bretagne	929
AU	C.M.I. 40. 506	URQUIJO	<i>Castanea sativa</i>	Espagne	769-843-894-960
<i>P. cambivora</i> BB	C. B. S.	PETRI	<i>Castanea sativa</i>	Italie	995
BP	C.M.I. 40. 505	PIMENTEL	<i>Castanea sativa</i>	Portugal	428-718-964
BD	La Coruña D	DUFRENOY	<i>Castanea sativa</i>	France (Dufrénoy à C.B.S.-CBS à la Coruña)	845-961
2) Souches isolées par les auteurs étrangers					
<i>P. cinnamomi</i> AX	La Coruña	URQUIJO	<i>Castanea sativa</i>	Pueblea de Brollon Espagne	335-875-884
AM	La Coruña M	URQUIJO	<i>Castanea sativa</i>	Espagne	846-892
AB	La Coruña BA	URQUIJO	<i>Castanea sativa</i>	Espagne	844-885
AN	Alcobaca	CT FERNANDES	<i>Juglans regia</i>	Portugal	1009
AC	Alcobaca	CT FERNANDES	<i>Quercus robur</i>	Portugal	1011
AP	Alcobaca	CT FERNANDES	<i>Castanea sativa</i>	Portugal	1012
AQ	L. C. 790	MOREAU	<i>Quercus borealis</i>	Sare France	681-936
<i>P. cambivora</i> BC	Alcobaca	CT FERNANDES	<i>Castanea sativa</i>	Portugal	1010

C.M.I. Commonwealth Mycological Institute, Kew (Grande-Bretagne).

C.B.S. Centraal bureau Voor Schimmel cultures, Baarn (Pays-Bas).

L.C. Laboratoire de Cryptogamie, Muséum d'Histoire Naturelle, Paris.

permis de constater que l'hybridation était possible entre deux espèces bien distinctes. Ce fait est susceptible de jeter un jour nouveau sur les distinctions spécifiques. Il nous est donc apparu utile, de préciser les caractéristiques des espèces et l'étendue de leur variabilité.

Dans ce mémoire, nous nous limiterons à l'étude des deux espèces *P. cinnamomi* et *P. cambivora*. Les *P. cactorum* et *P. megasperma* ne posent pas de problèmes sur le plan taxonomique, les deux souches isolées étant bien caractéristiques de l'espèce et nettement différentes des autres *Phytophthora*.

Dans une première partie nous rapportons des résultats des travaux et observations concernant les caractères distinctifs tels qu'ils résultent de l'examen des trois clés de détermination de TUCKER LEONIAN et WATERHOUSE.

Dans une seconde partie, nous examinerons d'autres caractéristiques pouvant aider la discrimination des espèces.

MATÉRIEL ÉTUDIÉ

Il comprend :

- 1° des souches de référence en provenance des mycothèques de Baarn et de Kew.
- 2° des souches isolées de châtaignier et de noyer par des auteurs étrangers ainsi qu'une souche de *P. cinnamomi* isolée du chêne rouge, en France, par MOREAU.
- 3° des souches que nous avons isolées de châtaigniers et de noyers atteints de dépérissement en France.

Les tableaux 1 et 2 donnent les caractéristiques de ces diverses souches ⁽¹⁾.

TABLEAU 2
Souches isolées en France. (1)

Date	Indicatif	Hôte	Origine	N° des isolements et transferts
	<i>P. cinnamomi</i>			
1951	A 1	Châtaignier	Ailhon Ardèche	317-820-876
1954	A 2	Châtaignier	Ceyrat P. de D	424-789-883
1956	A 4	Châtaignier	Brive Corrèze	635-657-762
1958	A 5	Germination de <i>J. regia</i>	Menglon Drôme	763
	A 6	Châtaignier	Asperjoc Ardèche	771
	A 7	Châtaignier	Fabras Ardèche	773
	A 8	Châtaignier	Mayres Ardèche	776
1959	A 9	Châtaignier	Lalevade Ardèche	871-902-908-958
	A 10	Germination de <i>J. regia</i>	Brive Corrèze	903
	A 11	Noyer en pépinière	Payzac Dordogne	924
	A 12	Châtaignier en pépinière	Brive Corrèze	966
	<i>P. cambivora</i>			
1958	B 1	Châtaignier	Jaujac Ardèche	770-877
	B 2	Châtaignier	Mayres Ardèche	775
	B 3	Châtaignier	Escrinet. Ardèche	778
1959	B 4	Châtaignier	Lalevade Ardèche	870-895-900

(1) La distinction en *P. cambivora* et *P. cinnamomi* résulte de l'étude des caractères qui sont précisés dans le présent mémoire.

(1) Les *P. cinnamomi* portent un indicatif commençant par la lettre A les *P. cambivora* par la lettre B. L'indicatif est complété par une seconde lettre pour les cultures de provenance étrangère et par un numéro d'ordre pour les souches que nous avons isolées.

ÉTUDE DES CARACTÈRES DISTINCTIFS DES ESPÈCES

P. CAMBIVORA ET P. CINNAMOMI

Les critères spécifiques permettant de distinguer le *P. cambivora* du *P. cinnamomi* sont résumés dans le tableau suivant synthétisant les 3 clés de détermination (tableau 3).

Pour chaque caractère on a étudié l'étendue des variations possibles, d'une part entre les différentes souches de l'espèce considérée ; d'autre part, pour une même souche, en fonction des conditions de milieu ou de temps.

I. — MORPHOLOGIE DU MYCÉLIUM.

Selon les auteurs, le *P. cinnamomi* se distingue du *P. cambivora* par l'aptitude de son mycélium à former des vésicules plus ou moins irrégulières et volumineuses.

Toutes les souches de référence étudiées (AU. AE. AF). appartenant à l'espèce

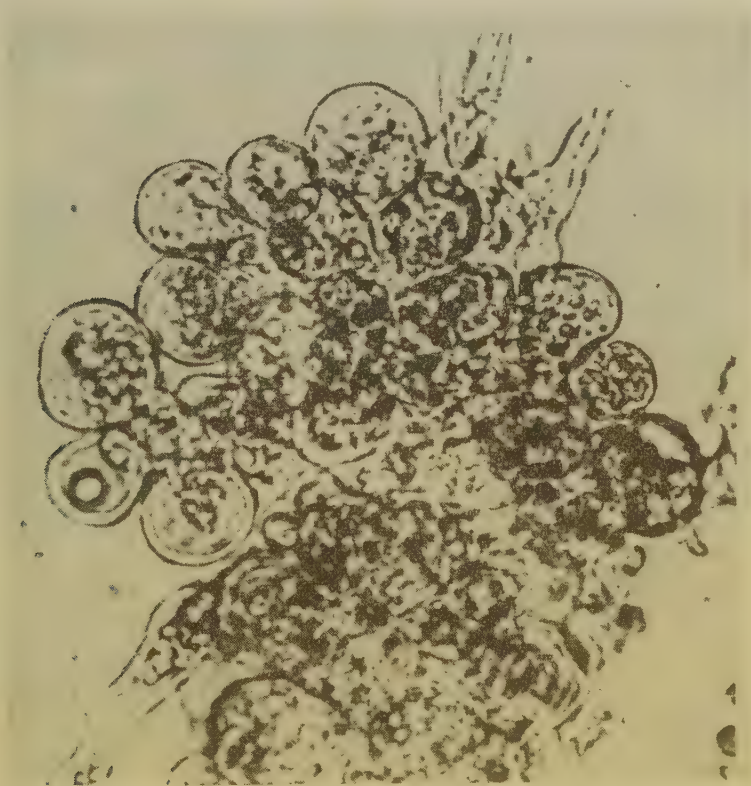


FIG. 1. — *P. cinnamomi* AU ; vésicules en formation (culture de 10 jours sur quaker -oats) X 450.

P. cinnamomi forment une grande quantité de vésicules sur les milieux gélosés riches (quaker, maïs, peptone glucosée), en couche épaisse et au bout de 6 à 10 jours, l'aspect du mycélium est très caractéristique (fig. 1) ; les vésicules sont nombreuses



FIG. 2. — *P. cinnamomi* AF ; début de formation des vésicules, on remarque que dans les premiers stades la membrane est plus mince que celle du mycélium (culture de 6 jours sur quaker-oats) X 600.



FIG. 3. — *P. cinnamomi* AF ; vésicule à membrane épaisse se transformant en chlamydospore (culture de 10 jours sur quaker-oats) X 600.

disposées sans ordre. Dans certaines souches l'aspect mycélien n'est presque plus visible tant sont développées les formations irrégulières.

Dans les milieux riches, au bout d'une quinzaine de jours les parois des vésicules s'épaississent. Certaines sont entièrement vides ou occupées par une faible masse de protoplasme entourant une très grosse lacune. D'autres s'isolent du filament mycélien par une cloison, elles contiennent un protoplasme dense et se transforment en chlamydospores (fig. 2-3).

Les souches de *P. cambivora* (BB-BP-BD) ne produisent jamais autant de vésicules sur les parties jeunes des hyphes et des chlamydospores ne se forment que de façon exceptionnelle.

Ainsi qu'en témoignent les figures 1 à 13, les parois des filaments mycéliens du *P. cambivora* sont lisses alors que celles du *P. cinnamomi* présentent des verrucosités apparentes.

Variation entre les différentes souches.

La quantité de vésicules produite par le *P. cinnamomi* est extrêmement variable d'une souche à l'autre ; les fig. 4-5-6 illustrent ces différences pour les trois souches



FIG. 4. — *P. cinnamomi* AF ; vésicules particulièrement abondantes ; l'aspect mycélien n'est presque plus visible (culture sur gélose-mais de 10 jours) X 600.

de référence étudiées. En ce qui concerne le *P. cambivora* notons d'abord les particularités de la souche BD qui se distingue par l'irrégularité de son mycélium et qui, en première analyse, constitue un intermédiaire entre les deux espèces.



FIG. 5. — *P. cinnamomi* AE ; vésicules latérales. On remarque que la formation des vésicules est moins importante que pour la souche AF. (culture sur gélose-maïs de 10 jours) X 700.

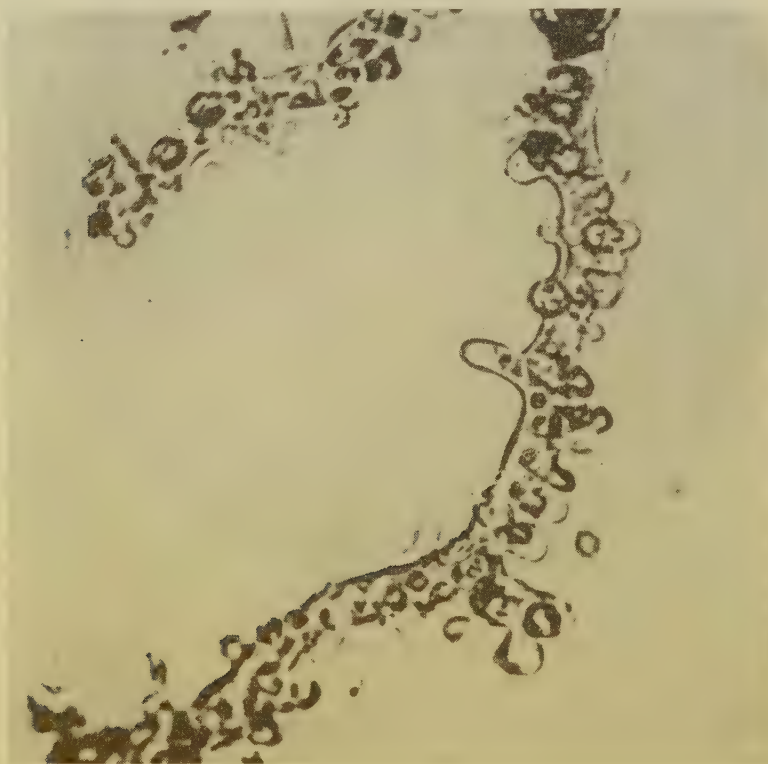


FIG. 6. — *P. cinnamomi* AU ; mycélium coralloïde. Les vésicules sont en cours de formation. Sur la partie de mycélium représentée il y a un grand nombre de verrues et protubérances (culture sur gélose-maïs de 8 jours) X 700.

TABLEAU 3

Caractères distinctifs des espèces P. cambivora et P. cinnamomi.

Auteur	<i>P. Gambivora</i>	<i>P. cinnamomi</i>
LEONIAN	Pas de croissance dans le vert malachite à 0,125 p. p. M. Sporanges non papillés, non pédicellés.	Croissance dans le vert malachite à 0,125 p. p. M. Pas de sporanges dans l'eau distillée-chlamydospores.
TUCKER.....	Optimum à 27°-30° C. Sporanges non papillés rares. Non pathogène sur le tubercule de pomme de terre.	Optimum à 25°-27° C. Sporanges non papillés rares. Pathogène pour le tubercule de pomme de terre.
WATERHOUSE.....	Oogones et antéridies formées avec <i>P. parasitica</i> . Paroi de l'oogone verruqueuse. Hyphes quelquefois vésiculeux.	Oogones et anthéridies formées avec <i>P. cryptogea</i> . Nombreuses vésicules et renflements.

Variations selon les conditions de milieu.

Le mycélium aérien des deux espèces est sensiblement le même ; il est constitué d'hyphes cylindriques lisses et ne permet pas de distinctions spécifiques (fig. 7-8). Il faut pour observer les vésicules, examiner le mycélium poussant à l'intérieur de la gélose. Deux facteurs principaux influent sur sa morphologie.

a) *L'épaisseur du milieu de culture.* — On s'aperçoit de l'importance de ce facteur lorsque, dans le but d'obtenir des préparations microscopiques où les filaments puissent être observés sans déformations, on réalise des cultures sur lame, sous lamelle ⁽¹⁾.

Dans de telles conditions, il ne se forme que très peu de vésicules. Le *P. cambivora* peut cependant être distingué du *P. cinnamomi* par ses filaments mycéliens à membrane lisse et son extension régulière. Au contraire, le *P. cinnamomi* a des hyphes fortement verruqueux (fig. 9-10-11-12). Cette distinction n'est toutefois bien nette que sur les extrémités des filaments ayant 24 à 48 heures d'existence, puisque sur le mycélium plus âgé du *P. cambivora* on peut voir des irrégularités importantes et parfois même de véritables verrucosités. Notons une fois de plus le comportement intermédiaire de la souche BD (fig. 13).

b) *La composition du milieu.* — Nous avons réalisé des cultures sous lamelles en employant de la gélose à 2 p. 100 de peptone et des concentrations de glucose de 0, 5-1-2-5 p. 100 ; une autre série était composée de milieu au maltéa à 0,5-1-2-5 p.

⁽¹⁾ Nous avons standardisé la méthode d'obtention des cultures sous lamelle en opérant de la façon suivante :

On prépare des petites cellules en plaçant sur une lame une première lamelle destinée à régulariser l'épaisseur. Cette lamelle est recouverte d'une seconde qui, placée en porte à faux, dépasse largement le bord de la première. Cette seconde lamelle se trouve donc à une distance de la lame égale à l'épaisseur de la première lamelle. L'ensemble est maintenu en place au moyen d'une pince. La partie libre entre lame et lamelle est ensuite fixée par 4 gouttelettes de lut ; on retire la première lamelle, on complète le lutage sur 3 côtés, il ne reste plus qu'à introduire de la gélose en surfusion dans la cellule ainsi constituée et à ensemercer. On maintient ensuite la culture en chambre humide. On emploie de préférence un milieu gélosé transparent (maltéa à 1 p. 100) ; le développement du mycélium est tel qu'il faut 4 à 5 jours pour remplir complètement la cellule.

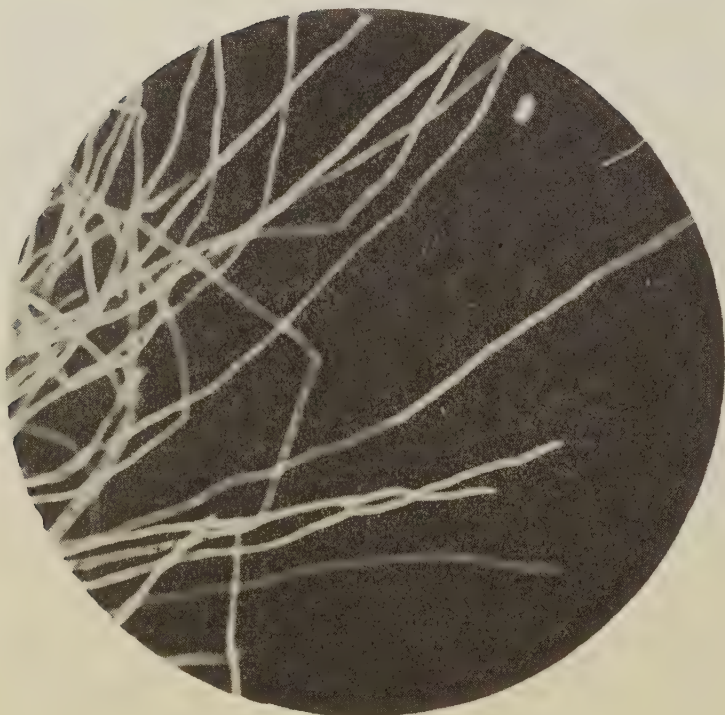


FIG. 7. — *P. cambivora* BB ; mycélium aérien (culture sur gélose-maltée de 5 jours) X 400.

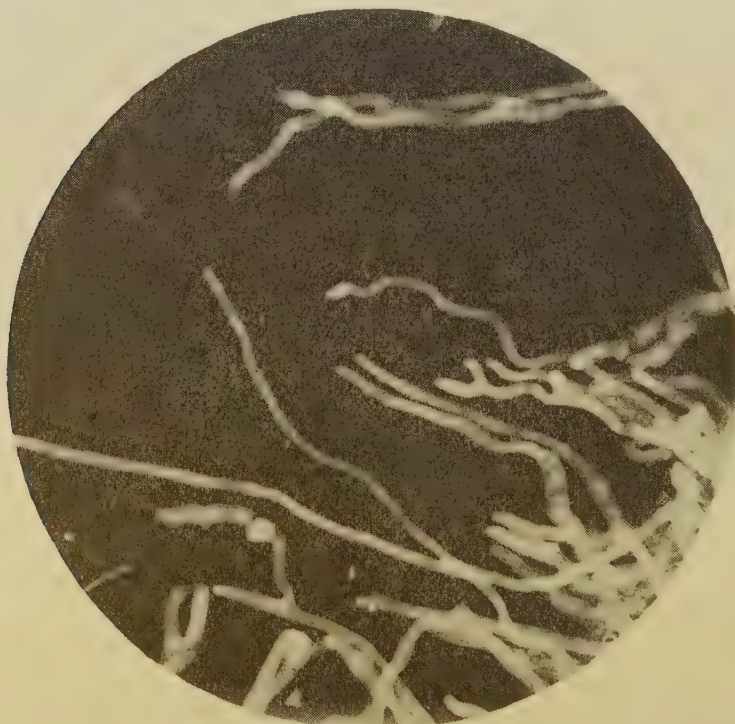


FIG. 8. — *P. cinnamomi* AF ; mycélium aérien. On remarque que le mycélium ne diffère pas sensiblement de celui du *P. cambivora* BB (figure 7). Il est constitué par des hyphes à paroi lisse. (culture sur gélose-maltée de 5 jours) X 400.

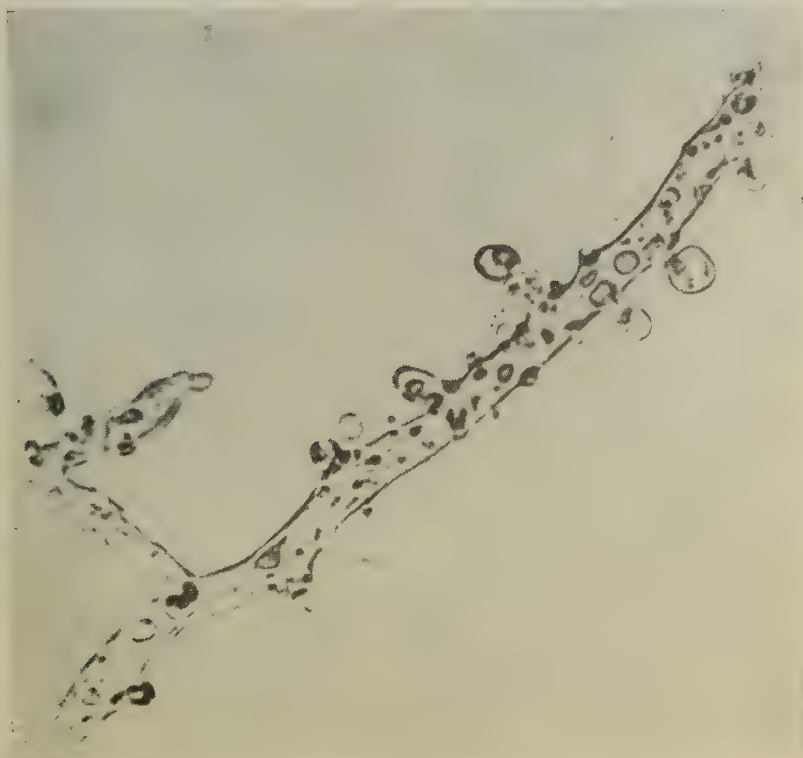


FIG. 9. — *P. cinnamomi* AF ; mycélium verruqueux. (culture sur gélose-maltéa de 3 jours)X 700.

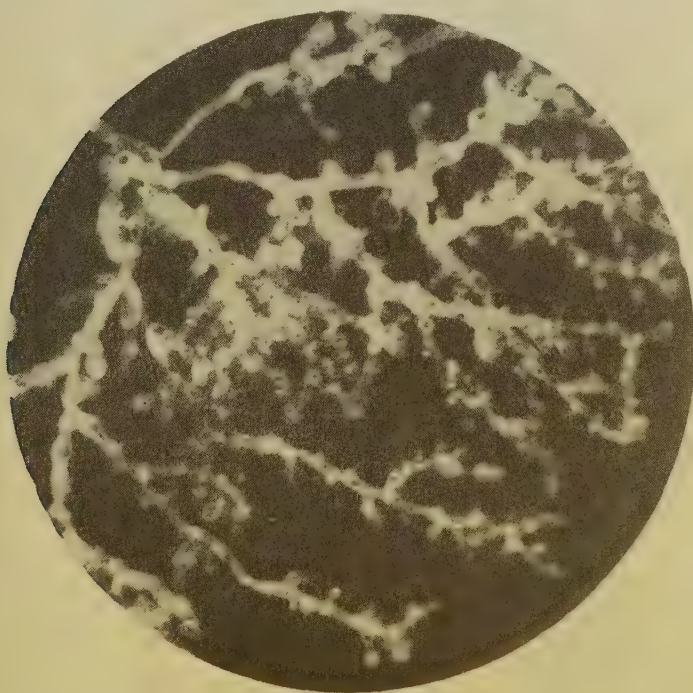


FIG. 10. — *P. cinnamomi* A 1 ; mycélium verruqueux ; la disposition des ramifications donne en outre à ce mycélium un aspect coralloïde. (culture sur gélose-maltéa de 3 jours) X 600.



FIG. 11. — *P. cambivora* BB ; extrémités mycéliennes. On remarque que la membrane est très uniformément lisse ; les extrémités des hyphes sont très légèrement renflées. (culture sur gélose-maltéa de 3 jours) X 600.

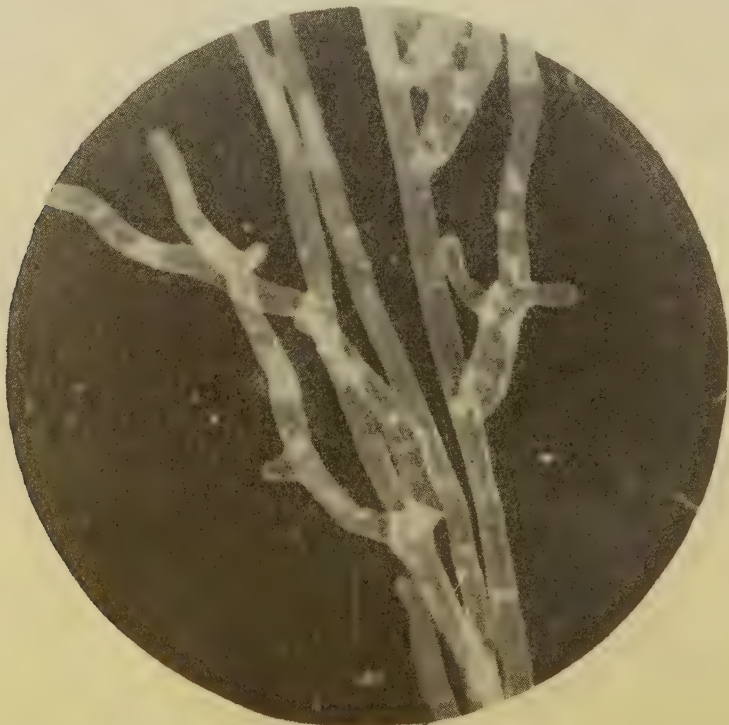


FIG. 12. — *P. cambivora* B4 ; on remarque que les membranes bien que sinueuses ne sont pas pourvues des verrues caractéristiques des formes de *P. cinnamomi* (figures 8 et 9) (culture sur gélose-maltéa de 3 jours) X 600.

100. On a comparé sur ces milieux une souche de *P. cinnamomi* fortement vésiculeuse : A1, et une souche de *P. cambivora* : B4.

Les résultats obtenus après 8 jours de culture font apparaître des vésicules sur peptone lorsque la concentration en glucose atteint 5 p. 100 pour le *P. cambi-*



FIG. 13. — *P. cambivora* BD ; cette souche reçue de la mycothèque de la Corûna sous la désignation de *P. cambivora* est caractérisée par un mycélium à paroi lisse mais montrant une tendance nette à former des vésicules. Par d'autres caractères, cette souche est à classer dans l'espèce *P. cinnamomi*. (culture sur gélose-mais de 5 jours) X 505.

vora et 2 p. 100 pour le *P. cinnamomi*. Dans ces essais, les vésicules sont toujours petites et constituées le plus souvent par de simples renflements du mycélium, sans différenciation poussée (fig. 14-15-16-17). Cependant, les deux espèces restent encore facilement séparables.

Variation en dehors des conditions de milieu.

Des cultures des différentes souches ont été examinées à de nombreuses reprises depuis 1951. Nous n'avons jamais remarqué l'apparition de zones d'aspect différent du reste de la colonie, ni constaté qu'une souche de *P. cinnamomi* présentait un mycélium lisse, uniforme, ni qu'une souche de *P. cambivora* pouvait avoir un mycélium verruqueux. Par contre, maintenues très longtemps en culture au laboratoire, les souches de *P. cambivora* produisent souvent d'abondantes vésicules lorsqu'on



FIG. 14. — *P. cinnamomi* A 1 ; vésicules peu nombreuses (culture sur gélose-peptone à 0,5 p. 100 de glucose de 5 jours) X 700.



FIG. 15. — *P. cinnamomi* A1 ; vésicules nombreuses (culture sur gélose-peptone à 2 p. 100 de glucose de 5 jours) X 700.



FIG. 16. — *P. cambivora* B4; vésicules peu nombreuses (culture sur gélose-peptone à 0,5 p. 100 de glucose de 5 jours) X 650.

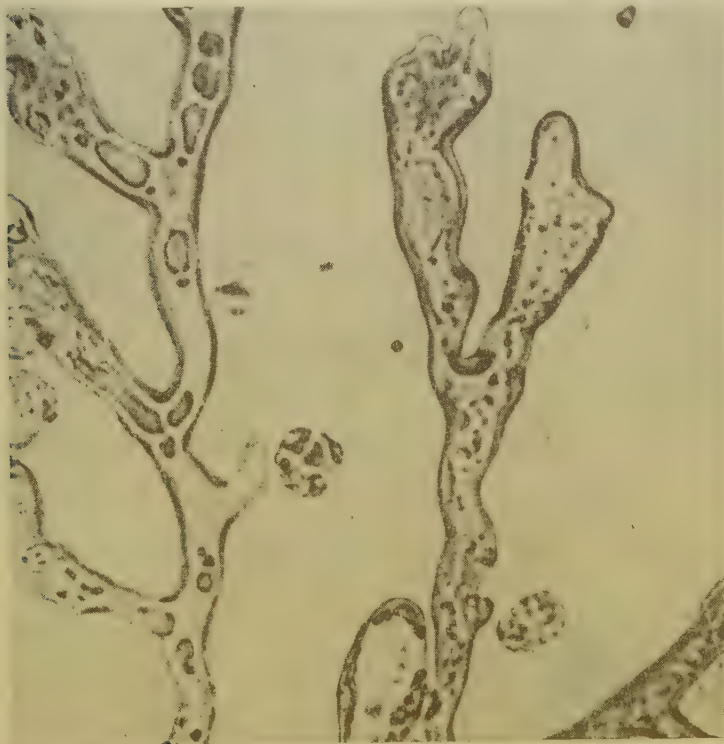


FIG. 17. — *P. cambivora* B 4; On remarque une légère tendance à la formation de vésicules, qui se manifeste par l'élargissement de l'extrémité des hyphes (culture sur gélose-peptone à 2 p. 100 de glucose de 5 jours) X 700.

repique de vieux tubes. Cette propriété s'est cependant toujours rapidement dissipée par la pratique des repiquages successifs. Le phénomène est donc tout à fait exceptionnel, il n'a qu'une durée transitoire.

Différents auteurs ont observé, sur des colonies obtenues en boîte de Pétri, l'apparition de secteurs mutants chez certaines espèces notamment pour le *P. cactorum*. Selon STAMPS ces mutants sont fréquents dans les cultures faites à partir de zoospores, et les formes obtenues sont susceptibles de faire retour au type primitif à la suite de plusieurs repiquages.

Nous n'avons pas pu procéder à de telles observations par suite de la difficulté d'obtention des sporanges et des zoospores en milieu stérile avec les espèces étudiées.

BUDDENHAGEN a provoqué des mutations chez le *P. cactorum* par irradiation X ou U. V. Il a obtenu, en particulier, des formes de mycélium rappelant le *P. cinnamomi*. Il semble que l'espèce *P. cactorum* soit véritablement très plastique et bien loin de la stabilité du *P. cambivora* et du *P. cinnamomi*. Nous n'avons pas encore étudié l'influence de l'irradiation, mais nous avons cherché à provoquer les mutations en cultivant le *P. cambivora* dans un liquide ayant déjà servi à la culture du *P. cinnamomi*; et vice-versa. Aucun résultat notable n'a cependant encore été obtenu.

Nous devons donc, pour l'instant, admettre une stabilité assez marquée des caractères morphologiques du mycélium, même en présence de variations importantes du milieu.

Nous pouvons donc classer les souches isolées en France dans les deux espèces en utilisant le critère du mycélium lisse chez le *P. cambivora* et verruqueux chez le *P. cinnamomi*. C'est la classification qui a été adoptée dans le tableau 2. Notons que les formes à morphologie intermédiaire à mycélium coralloïde ont été classées dans l'espèce *P. cinnamomi* par suite des verrucosités du mycélium et malgré la moindre abondance et le moindre développement des vésicules.

II. — EXIGENCES THERMIQUES DES ESPÈCES.

Selon TUCKER, l'optimum de croissance s'établit vers 25-27° pour le *P. cinnamomi* et 27-30° pour le *P. cambivora*, la croissance des deux espèces devenant nulle au delà de 35°.

Nous avons mesuré la vitesse de croissance à diverses températures par 3 méthodes.

1° Méthode des rubans de gélose.

La difficulté principale rencontrée dans l'étude de l'influence de la température sur le développement des *Phytophthora* est l'irrégularité du développement sur plaque de gélose nutritive. Pour éviter les erreurs de mensuration dues aux dissymétries et à la présence de lobes à la marge des colonies, nous avons cherché à faire développer le champignon sur des rubans de gélose nutritive longs et minces. Pour que les filaments mycéliens croissent en se groupant en marge nette, on ensemence à une extré-

mité du ruban de gélose ; la croissance ne peut donc avoir lieu que dans un seul sens ⁽¹⁾.

Les colonies obtenues par cette méthode se prêtent bien à des mensurations assez précises. Le taux de croissance journalier est calculé par la méthode de coefficient de régression linéaire. Cette technique présente cependant un gros défaut par le manque de fixité des résultats. Certains jours, la colonie croît de plusieurs mm, d'autres jours elle reste à peu près stationnaire. Ces faits sont dus à ce qu'à certains moments, les filaments se ramifient latéralement, formant des bouquets très touffus, et à d'autres moments, ils s'allongent au contraire sans se ramifier. Après plusieurs dizaines d'expériences, on ne peut décider avec certitude de la température optimale. On doit donc rejeter cette méthode et employer la seconde.

2° Mesure du poids de mycélium formé en culture sur milieu liquide ⁽²⁾.

Les résultats obtenus par cette méthode sont assez fidèles et varient peu selon les différentes répétitions. Par exemple, nous donnerons dans le tableau 4 les poids de mycélium obtenus en 12 jours dans une expérience comportant 3 répétitions (souches AU).

TABLEAU 4

mg de matière sèche obtenus en 12 jours avec le P. cinnamomi AU.

Températures	I	II	III	Moyenne	Taux journalier
25°	77	101	63	80,3	6,6
27°	140	151	149	146	12,1
28°	66	57	66	63	5,2
29°	48	49	53	50	4,1

Les différences entre les diverses répétitions d'une même expérience sont beaucoup moins importantes que celles qui affectent les moyennes obtenues aux diverses températures : l'expérience est donc significative, bien que le nombre de répétitions soit peu élevé.

Pour corroborer les résultats obtenus nous avons utilisé une troisième méthode.

⁽¹⁾ Les rubans de gélose sont obtenus en coulant le milieu de culture (gélose peptone glucosée) dans des tubes à essais calibrés (18 mm de diamètre, 18 cm de longueur) ; il suffit, pendant la solidification, de tenir le tube bien horizontal. Bien entendu la gélose vient mouiller le bouchon du tube, mais cela ne présente pas d'inconvénient si on emploie, non des bouchons de coton, mais des capsules d'aluminium tenues à frottement doux, comme nous le faisons pour toutes nos cultures.

Pour l'ensemencement des rubans, on place à l'extrémité ouverte du tube une pastille découpée à l'emporte-pièce dans la marge d'une colonie sur plaque de gélose. On dispose la pastille de telle façon que les extrémités des tubes mycéliens en croissance soient dirigées vers le fond du tube, le mycelium aérien en contact avec la gélose. Les tubes ensemencés sont placés à l'étuve à température constante et les mensurations sont faites quotidiennement.

⁽²⁾ On utilise une solution de maltéa à 1 p. 100. On opère dans des boîtes de Roux de 1 litre tenues verticalement et contenant chacune 250 cc de liquide. L'ensemencement est pratiqué au moyen d'un très petit fragment de culture sur gélose au maltéa. On extrait les colonies au bout de 5 jours, on les rince soigneusement, on dessèche à 110° jusqu'à poids constant. La quantité de matière sèche formée quotidiennement donne une bonne évaluation de la vitesse de croissance à la température considérée.

3° Mesure de la croissance sur des rameaux de noyers maintenus en survie.

On opère sur des gourmands produits dans l'année à la suite d'un élagage sévère. On peut facilement réunir un grand nombre de fragments constituant un matériel homogène ⁽¹⁾.

Lorsque les rameaux sont prélevés sur un noyer en repos végétatif, ils se comportent comme un support inerte sur lequel le parasite se développe comme sur un milieu de culture in vitro.

La mesure des lésions obtenues constitue une évaluation de la vitesse de croissance du champignon.

4° Résultats obtenus.

Grâce à ces différentes méthodes, on peut déterminer l'optimum avec une marge d'erreur de 2° environ. Les conclusions de nos essais sont résumées dans le tableau 5.

TABLEAU 5
Température optimum pour la croissance des souches de *P. cambivora* et *P. cinnamomi* (optimum donné à 2° près).

Souches	Température en °C											
	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
<i>P. cambivora</i>												
a) BB.....												
BP.....												
BD.....												
b) B1 B3.....												
B4 B2.....												
<i>P. cinnamomi</i>												
a) AU.....												
AE.....												
AF.....												
AQ.....												
AM-AB-AX.....												
b) A1.....												
A6-A8-A9.....												
A7-A10-A11.....												

a) Souches de référence.

b) Isolées de châtaignier et de noyer.

Ces résultats sont en contradiction avec les conclusions de TUCKER selon lesquelles le *P. cambivora* aurait un optimum plus élevé que celui du *P. cinnamomi*. Pour les souches de référence BB et BP l'optimum est situé entre 22 et 24° alors que pour les *P. cinnamomi* AU. AE. AF., il varie de 24 à 29°. La souche BD se comporte comme les souches de référence de l'espèce *P. cambivora*.

(1) On maintient ces fragments en survie en les plaçant dans de la mousse humide stérile dans un récipient hermétique. Après stérilisation de la surface à l'alcool, les fragments sont inoculés avec la souche à étudier selon la méthode décrite dans un précédent mémoire pour l'épreuve de la virulence des souches sur un matériel clonal.

Les souches isolées en France et primitivement déterminées comme *P. cambivora* ne se comportent pas comme les souches de référence ; l'optimum est plus bas : de 18 à 22°.

Les souches de *P. cinnamomi* françaises ont aussi leur optimum plus bas que les souches de référence. La souche A1 se comporte exactement comme les *P. cambivora* de référence.

Nous devons remarquer cependant qu'entre les souches françaises rapportées au *P. cambivora* et celles rapportées au *P. cinnamomi*, il y a une différence nettement marquée dans la place de l'optimum, différence qui ressort bien sur le tableau 5.

Notons également qu'il n'y a pas corrélation entre l'aptitude à former des vésicules et l'optimum élevé ; en effet la souche A1, très vésiculeuse, est celle qui a l'optimum le plus bas, au même niveau que la souche B1 peu vésiculeuse. Par contre la souche AF très vésiculeuse a l'optimum le plus haut.

Variations selon le milieu.

Les mesures de poids de matière sèche ont été faites dans des milieux assez pauvres (maltéa 1 p. 100) ; on a fait quelques essais en milieux plus riches (bouillon de farine de maïs, milieu à base d'acides aminés) avec des résultats identiques : il ne semble pas y avoir d'influence de la richesse du milieu. Dans la méthode de mesure de la croissance sur le cambium des rameaux de noyer, on obtient des résultats toujours décalés de 2° vers les plus fortes températures par rapport à la méthode des poids de matière sèche. La cause de ce phénomène n'a pas été élucidée.

Variations en dehors des conditions de milieu.

Nous avons observé des fluctuations considérables par la méthode des rubans de gélose entre plusieurs expériences faites à des moments différents. Nous considérons qu'il ne s'agit pas là d'une variabilité du champignon mais d'un effet de la méthode puisque les diverses répétitions d'une même expérience faites en même temps, montrent également de grandes variations.

En conclusion, nous pouvons constater que pour les souches françaises, le *P. cinnamomi* est assez nettement différent du *P. cambivora*, la température optimum étant relativement plus élevée pour le premier, mais qu'il existe toute une chaîne d'intermédiaires à cet égard. Il y a concordance parfaite des déterminations basées sur la morphologie du mycélium et des exigences thermiques. En valeur absolue, l'optimum, pour les souches étrangères de référence, est supérieur de 2 à 4° à celui des *Phytophthora* isolés en France. Le caractère n'a donc qu'une valeur relative.

III. — FORMATION DES ŒUFS EN CULTURES COUPLÉES.

Pour G. WATERHOUSE, les modalités de formation des organes sexuels constituent le critère le plus important pour la discrimination des deux espèces : le *P. cambivora* forme ses œufs en culture avec le *P. parasitica* alors que le *P. cinnamomi* les forme avec le *P. cryptogea* PEFHYBRIDGE.

Nous avons appliqué ce test de détermination à diverses souches au cours de ces 3 dernières années en utilisant des souches de *P. parasitica* et *P. cryptogea* provenant de diverses mycothèques : FC et FM : *P. parasitica* du Laboratoire de cryp-

togamie du Museum d'Histoire Naturelle, ET et EB : souches de *P. cryptogea* du CMI et du CBS respectivement.

Deux techniques opératoires ont été utilisées : culture sur plaque de gélose en boîte de PETRI avec ensemencement des deux espèces à 2 cm l'une de l'autre, et culture sous lamelle ⁽¹⁾. Divers milieux de culture ont été expérimentés. Il y a lieu de préciser que la culture sous lamelle exige un milieu translucide (maltéa à 0,5-1 ou 2 p. 100).

Les organes sexuels se forment au bout de 8 à 10 jours pour les *P. cambivora* et 15 à 20 jours après ensemencement pour les *P. cinnamomi*. Le tableau 6 donne les résultats obtenus.

TABLEAU 6.

Obtention des organes sexuels en cultures couplées.

X : formation d'oogones et anthéridies.

— : pas de formation d'organes sexuels.

Souches testées	Souche test			
	<i>P. parasitica</i>		<i>P. cryptogea</i>	
	FC	FM	ET	EM-EB
<i>P. cambivora</i>				
a) BB				
BP	X	—	—	—
BD	—	—	—	—
b) B1	X	X	—	—
B2	X		—	—
B4	X		—	—
<i>P. cinnamomi</i>				
a) AU			X	X
AE	—		—	—
AF	—		X	—
b) AB-AX-AM	—		—	—
A2-A9-A10	—		—	—
A1	—		X	—
A2	—		X	—
A4	—		X	—
A5	—		X	—
A11	—		X	—

a) Souches de références b) Souches isolées de châtaignier et noyer.

On constate ainsi que la formation d'organes sexuels suit parfaitement les règles formulées par WATERHOUSE. Cependant, certaines souches, et en particulier

⁽¹⁾ On place sur une lame, à 1 cm l'un de l'autre, deux petits parallépipèdes découpés dans l'extrême marge des colonies de chacune des deux souches à mettre en présence. Il faut prendre soin au cours du découpage de dépasser légèrement la marge de façon que les fragments de gélose prélevés contiennent, d'un côté les extrémités des tubes mycéliens en croissance active, et de l'autre, une partie de gélose vide de mycélium. On oriente les deux parallépipèdes de façon telle que les parties de gélose vide soient en contact l'une de l'autre et on écrase ensuite le tout sous une grande lamelle (32 × 22 mm) sans chasser les bulles d'air qui se forment presque inmanquablement. On obtient ainsi deux zones occupées par les filaments dirigés les uns vers les autres, et une portion intermédiaire occupée par de la gélose vide dans laquelle les filaments vont venir se rencontrer et, le cas échéant, former les organes sexuels au voisinage des bulles d'air.

la souche BD, ne forment d'organes sexuels avec aucune des souches test dans les conditions de nos essais.

D'autre part toutes les souches de *P. parasitica* et de *P. cryptogea* ne conviennent pas pour l'appariement. Des faits analogues ont déjà été signalés par STAMPS.

Enfin, selon ASHBY, il peut y avoir formation d'œufs dans les cultures de *P. parasitica* avec *P. cinnamomi*, ce qui serait contraire aux règles de WATERHOUSE. Nous n'avons observé ce phénomène dans aucune de nos expériences.

Fluctuations observées.

Les variations observées sont très importantes. En règle générale, le *P. cambivora* forme assez facilement et en assez grande quantité ses œufs avec le *P. parasitica* FC, mais cette formation est toujours sporadique et sous l'influence de facteurs physiologiques qui restent à préciser.

En ce qui concerne les souches de *P. cinnamomi*, l'obtention des œufs est extrêmement rare dans les conditions expérimentales que nous avons employées ; elle n'a lieu que dans quelques unes des répétitions, faites pourtant au même moment et avec un grand souci de standardisation. Seule la souche AU forme quelques œufs de façon à peu près régulière au bout de 15-20 jours de culture avec la souche ET.

L'utilisation de ce test pour la détermination des espèces nous semble donc aléatoire, tout au moins tant qu'on n'aura pas défini les facteurs déterminants.

Nous avons essayé d'étudier l'influence du milieu sur la formation des oospores et anthéridies. Dans cette étude qui est encore à ses débuts nous avons pu constater que :

1° les milieux riches (quaker, maïs) sont les plus favorables.

2° les œufs n'apparaissent pas dans les cultures sur milieux liquides (eau de maïs, maltéa) ; pour qu'ils se forment, il faut utiliser un substrat assez ferme (plus de 15 g de gélose par litre).

3° certaines substances semblent favoriser leur formation, en particulier les extraits de plantules de châtaignier et certaines vitamines.

Il y a là un champ de recherches particulièrement riche car l'incertitude est encore grande sur les effets réalisés dans les cultures couplées. Pour certains auteurs il y aurait stimulation chinique, pour d'autres, hybridation. Nous verrons plus loin certains faits en rapport avec cette dernière hypothèse.

Les espèces étudiées forment très rarement des organes sexués en culture pure. PETRI a observé les œufs du *P. cambivora* sur carotte et ALLAIN a confirmé ces observations. ASHBY a observé les œufs du *P. cambivora* et du *P. cinnamomi* dans de vieilles cultures sur farine de maïs et quaker. Il s'agit là de cas exceptionnels. Sur les milieux les plus divers, toutes nos souches cultivées à l'état pur, ne révèlent pas d'organes sexuels.

Modalités de formation des œufs.

a) *Morphologie des organes sexuels.* — Les œufs sont tous à anthéridie amphigyne, mais présentent des variations assez importantes. Dans les cultures associées de *P. cambivora* et *P. parasitica*, on observe plusieurs types d'appareils sexuels. Le type prédominant présente des petits oogones de 15 à 28 μ de diamètre à paroi lisse, associés à des anthéridies longues : 20 à 40 μ .

On obtient plus rarement des types à anthéridie longue avec un oogone gros et

verruqueux de 40 à 60 μ de diamètre. Exceptionnellement, on trouve des oogones lisses et de grande taille associés avec des anthéridies courtes.

Selon les auteurs, le *P. cambivora* est caractérisé par un oogone de 30 à 60 μ , à membrane verruqueuse et une longue anthéridie de 18 à 50 μ . Le *P. parasitica* aurait des oogones de 18 à 30 μ avec une anthéridie plus petite.

Des phénomènes d'hybridation et d'autofécondation ayant été observés pour ces 2 *Phytophthora*, il est possible d'envisager que les œufs à anthéridie longue et à oogone de petite taille sont ceux qui proviennent de l'hybridation du *P. parasitica* se comportant comme femelle par le *P. cambivora* intervenant comme mâle, que ceux



FIG. 18. — Début de formation de l'anthéridie amphigyne. *P. cambivora* BP *P. parasitica* FC. On remarquera la pénétration du mycélium femelle (FC) dans l'ébauche d'anthéridie constituée par la souche BP. Le mycélium femelle a perforé la base de l'anthéridie et n'a pas encore atteint l'extrémité apicale. (culture sur gélose-maltée de 5 jours) X 1200.

qui présentent une anthéridie courte et un oogone à membrane verruqueuse proviennent du croisement réciproque et, enfin, que les œufs à gros oogone verruqueux et longue anthéridie proviennent d'une autofécondation du *P. cambivora*. Malheureusement ALLAIN a observé la formation de deux types d'œufs dans les cultures de *P. cambivora*. On peut toutefois se demander si cet auteur a travaillé avec des souches pures.

Dans le cas des cultures associées de *P. cinnamomi* avec le *P. cryptogea*, nous avons constaté l'existence d'appareils sexuels d'un seul type ; la membrane de l'oosphère est lisse, l'oogone présente un pédicelle longuement atténué, l'anthéridie est courte et non cloisonnée. Les mensurations effectuées donnent ; oogone : 38-42 μ

oosphère 30-38 μ , anthéridie 8-20, \times 16-23 μ . Les dimensions données par les auteurs sont, pour les oogones, *P. cryptogea* : 24-32 μ avec une membrane épaisse de 5 μ , *P. cinnamomi* : 21-42 μ . Ceci tend à faire admettre que l'oogone serait formé par le *P. cinnamomi*.

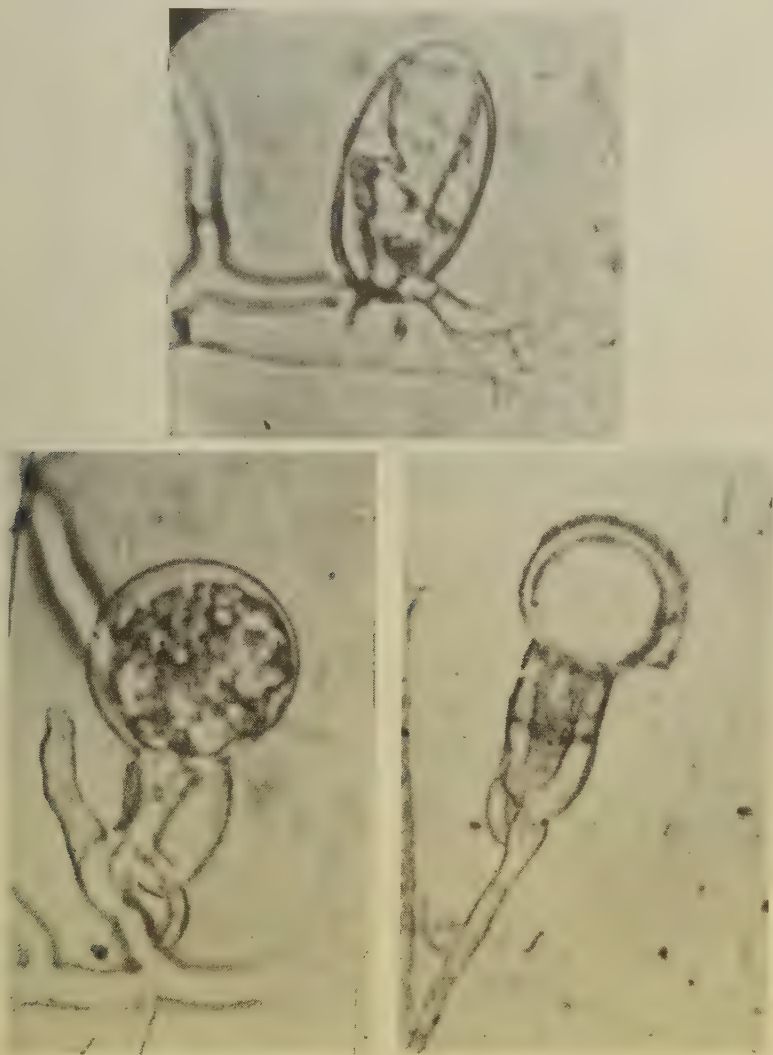


FIG. 19. — Stades divers de formation de l'anthéridie amphigyne et de l'oögon. En haut, on remarque que le mycélium femelle a atteint l'extrémité apicale de l'anthéridie pour la perforer. En bas à gauche, après perforation de l'extrémité apicale de l'anthéridie le mycélium femelle se renfle en une vésicule qui va constituer l'oögon. En bas à droite, cloisonnement de l'anthéridie avec rassemblement du protoplasme dans la cellule supérieure. On remarque dans ce cas particulier que le filament femelle est issu du pédoncule de l'anthéridie. Il y a autofécondation du *P. cambivora* BP (culture de *P. cambivora* BP associée au *P. parasitica* FC sur gélose-maltée de 7 jours) X 650.

b) *Mode de formation des œufs.* — La formation des œufs à anthéridie amphigyne dans les cultures associées du *P. cambivora* avec le *P. parasitica* est précédée de certaines modifications du thalle. Le filament mâle produit d'abord un renflement latéral ou terminal en massue qui est l'ébauche de l'anthéridie (fig. 18). Le filament femelle pénètre alors dans le renflement mâle en perforant sa base. Très souvent

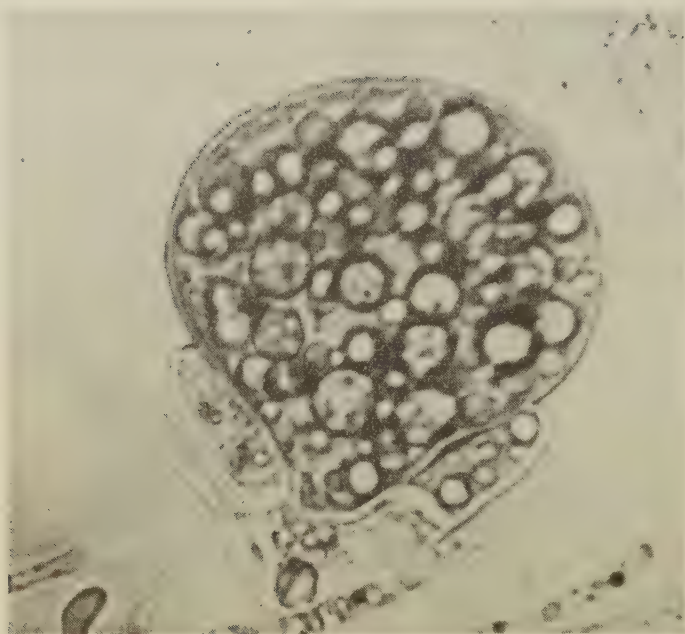


FIG. 20. — Appareils sexuels de *P. parasitica* FC en autogécondation ; disposition de l'antheridie amphigyne qui apparaît ici en coupe optique (culture sur gélose-maltée de 5 jours en couche très mince) X 500

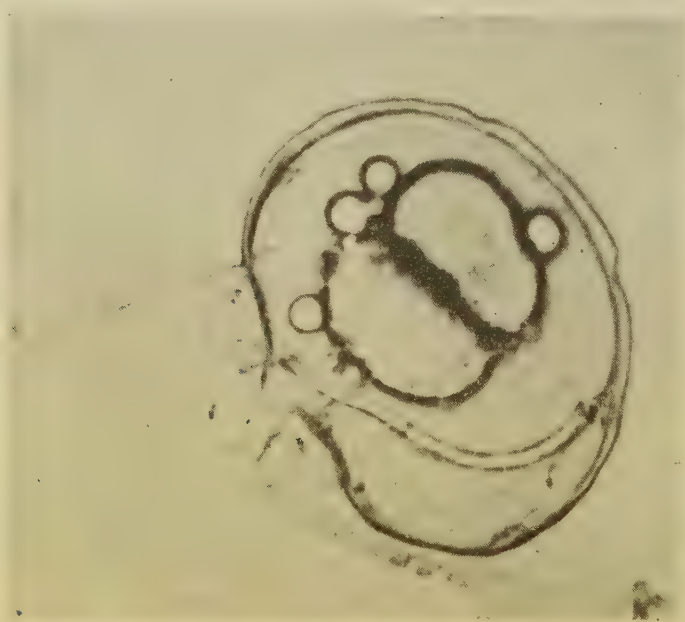


FIG. 21. — Appareils sexuels de *P. parasitica* FC en autogécondation ; formation de la membrane de l'oospère ainsi que le tube de copulation. (culture sur gélose-maltée de 7 jours en couche très mince) X 500.

les filaments mâles et femelles envoient des diverticules en tous sens dans le voisinage de la base de l'anthéridie, ce qui complique la disposition et rend l'interprétation difficile. Le diverticule femelle croît à l'intérieur de l'anthéridie cependant qu'une papille volumineuse, dont la convexité est tournée vers l'intérieur, se forme à son extrémité. Lorsqu'il a atteint l'extrémité apicale de l'anthéridie, le filament femelle repousse alors la membrane ; ce qui provoque une hernie dans laquelle il s'engage. L'oogone se forme alors en même temps que la membrane de l'anthéridie qui l'entourait se désagrège par gélification. La membrane du pédicelle de l'oogone s'épaissit, puis sa base s'obstrue par un bouchon épais. Finalement les organes sexuels se trouvent isolés du reste du mycélium par des cloisons.

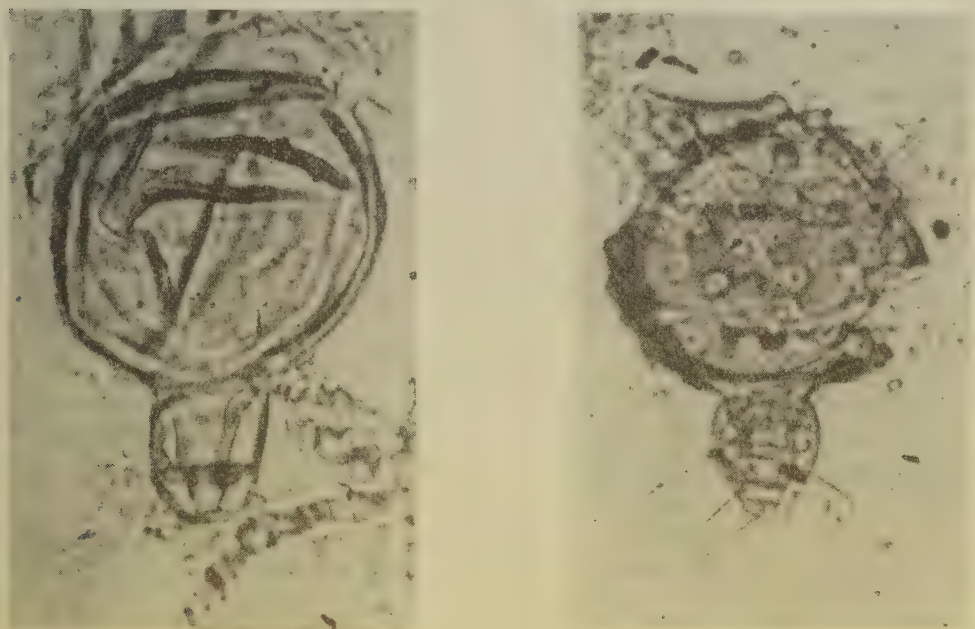


FIG. 22. — Membranes des oogones de *P. cambivora* BP X *P. parasitica* FC. A gauche : Oogone à membrane lisse. A droite : Oogone à membrane verruqueuse (culture sur gélose-mais de 10 jours) X 650.

Le protoplasme de l'anthéridie subit des remaniements qui aboutissent à la formation de grosses vacuoles. Il apparaît souvent un cloison transversale dans la région médiane de l'anthéridie, le protoplasme dense se concentre alors dans la cellule supérieure (fig. 19 à 22). L'oosphère s'isole par une membrane qui vient tapisser intérieurement la paroi de l'oogone. Dans certains cas, nous avons pu voir un canalicule reliant le protoplasme de l'oosphère avec celui de l'anthéridie. Ce canalicule, dont la paroi est épaisse et la lumière très étroite est vraisemblablement le tube qui assure la fécondation.

Ce mode de formation des organes sexuels n'est pas toujours respecté. Dans certains cas, il semble que l'oogone se soit formé par bourgeonnement de la cellule inférieure de l'anthéridie à travers la cellule supérieure. Dans d'autres cas, la pénétration du filament femelle se fait au niveau de la cloison de l'anthéridie précocement

formée. Parfois encore on observe des ébauches d'organes sexuels qui se vident de protoplasme.

La membrane de l'oogone présente souvent extérieurement une auréole, formée par les restes gélifiés de l'anthéridie. Dans le cas d'œufs à membrane verruqueuse, les verrucosités apparaissent comme de petites hernies sphériques et courtement pédicellées ; leur sommet se creuse ensuite très légèrement, on peut en compter environ une vingtaine. En faisant éclater l'oogone sous le microscope, on constate que la membrane de l'oosphère est lisse et que les verrues proviennent de la paroi oogoniale.

Le plus souvent, lorsqu'il est possible de déterminer l'origine du filament porteur de l'organe mâle, on constate qu'il est formé aux dépens de la colonie de *P. cambivora* alors que l'hyphé femelle provient du *P. parasitica* (1). Dans certains cas, nous avons vu le filament femelle se former par ramification du tube mâle et prendre naissance très près du pied de l'anthéridie ; dans ce cas les organes se forment par autofécondation. Dans quelques cas, nous avons pu assister à la fécondation du *P. cambivora* femelle par le *P. parasitica* mâle.

Dans tous les cas où nous avons observé l'apparition d'appareils sexuels dans les cultures de *P. cryptogea* avec *P. cinnamomi*, l'anthéridie était formée par le *P. cinnamomi*, mais il n'a pas été possible de déterminer l'origine du filament femelle. Nous avons vu que d'après les mensurations effectuées, il semble que l'oogone soit aussi formé par le *P. cinnamomi* ; il y aurait donc dans ce cas, autofécondation. Les modalités de formation des œufs sont tout à fait semblables à celles observées dans le cas du *P. cambivora*.

Nous avons essayé en vain de provoquer le développement des œufs en les plaçant en cellule de Van Tieghem pour obtenir leur germination. Il est vraisemblable que la germination n'intervient qu'après un temps de maturation assez long et que des conditions de milieu bien précises doivent être réalisées.

IV. — RÉSISTANCE AU VERT MALACHITE.

Les concentrations utilisées pour ce test sont 0,5-0,250-0,125 p. p. M. Nous avons opéré dans un milieu liquide contenant du phosphate monopotassique : 0 g,3, du sulfate de Mg : 0,6 g, du glucose : 3,6 g. On acidifie à pH 5,4 par l'acide sulfurique, la source d'azote étant constituée par la rondelle de milieu nutritif qui sert à l'ensemencement (2).

Les résultats obtenus sont donnés au tableau 7. On peut constater que la différence est très nette entre le *P. cambivora* et le *P. cinnamomi*.

(1) Dans les premiers stades de la formation des organes sexuels, il est possible parfois de déterminer l'origine des filaments mâle et femelle. On doit opérer avant que le diverticule oogonial ait fait saillie à l'extrémité apicale de l'anthéridie et que des cloisons se soient formées à la base des ébauches d'organes. En pressant sur la préparation sous le microscope, on fait refluer dans les hyphes le protoplasme du renflement anthéridial alors que celui de l'hyphé femelle demeure. Les mouvements protoplasmiques permettent alors de détecter le trajet des filaments.

(2) Les différents milieux utilisés par LEONIAN et GEER ainsi que par URQUIJO contiennent : 1°) des sels minéraux : sulfate de Mg, Phosphate monopotassique. 2°) une source de carbone : glucose ou extrait de malt (3 g à 5 g). 3°) une source d'azote : peptone ou acide nucléinique (1 à 2 g). L'ensemencement des tubes est pratiqué au moyen d'une rondelle découpée dans la marge d'une colonie sur plaque de gélose ; il faut prendre la précaution d'enlever toute trace de mycélium aérien par raclage avec une lame à raser. On examine les tubes au bout d'un mois. En général, la croissance est très faible, il faut souvent examiner les rondelles ensemencées à la loupe. Nous verrons que le pH du milieu et sa richesse en matières azotées influent sur les résultats.

TABLEAU 7.

Résistance au vert malachite (à pH 5,4).

Souches	Développement à		
	1/2 ppM.	1/4 ppM.	1/8 ppM.
<i>P. cinnamomi</i>			
a) Souches de référence			
AU. AE. AF.....	X	X	X
b) Souches étrangères			
AX. AM. AB.....	X	X	X
AN. AC. AP.....	—	Xf	X
c) Souches françaises			
A1. A4. A5. {			
A7. A8. A9. {	X	X	X
A10. A11. {			
A2. A6.....	Xf	X	X
AQ.....	X	X	X
<i>P. cambivora</i>			
a) Souches de référence			
BP.....	—	—	— ⁽¹⁾
BB.....	—	—	— ⁽¹⁾
BD.....	—	X	X
b) Souches françaises			
B1. B3. B4.....	—	—	—
B2.....	—	— ⁽¹⁾	Xf

⁽¹⁾ Développement à pH 6,2.

X Développement au bout d'un mois.

Xf Développement faible.

— Pas de développement au bout d'un mois.

La souche BD montre encore des caractères intermédiaires. Seules les souches AN AC AP qui nous sont récemment parvenues du Portugal présentent ces mêmes caractères.

Variation selon les souches.

La croissance des souches précédemment déterminées comme étant le *P. cinnamomi* a toujours lieu à 1/8 et 1/4 p. p. M. Toutes, sauf A2 et A6, se développent nettement à 1/2 p. p. m. Ces deux dernières ne s'accroissent que très faiblement à cette concentration, se rapprochant en celà de la souche de DUFRENOY BD.

Les souches de *P. cambivora* ne se développent pas à 1/2 et 1/4 p. p. M. et seule B2 se développe faiblement à 1/8.

Variation selon le milieu.

Si on ne prend pas la précaution d'acidifier fortement le milieu, on constate que les souches de *P. cambivora* sont susceptibles de se développer à 1/8 p. p. m. et même à 1/4 pour la souche B2. Si, comme procède URQUIJO, on acidifie par l'acide nucléinique (1 g par litre), on constate que beaucoup de souches de *P. cinnamomi* ne poussent plus à 1/2 p. p. M. : A2 et A6 en particulier, ainsi que A4-A5-AX-AM. Des résultats analogues peuvent être constatés si on ajoute au milieu une substance riche en azote organique comme la peptone. C'est pour cette raison que nous préférons ne

pas introduire de source d'azote dans le milieu, la quantité de protéines contenues dans la pastille d'ensemencement se révélant suffisante pour la croissance.

Variation en dehors de l'action du milieu.

Nous n'avons pas observé de variations notables ni constantes pour les différents essais effectués dans des conditions bien précises. Nous concluerons à nouveau à la fixité du caractère dans les limites précisées plus haut.

V. — FORMATIONS DES SPORGES.

Selon LEONIAN, le caractère distinctif serait la formation de sporanges chez le *P. cambivora* lorsqu'on place le mycélium pendant 2-3 jours dans l'eau distillée. Dans ces conditions, le mycélium du *P. cinnamomi* resterait stérile.

Dans tous les essais que nous avons effectués, nous n'avons que très rarement obtenu les organes de reproduction dans l'eau distillée, si bien que nous considérons ce caractère sans valeur pratique. URQUIJO relate des échecs tout à fait semblables avec les souches qu'il a étudiées. Nous avons essayé sans plus de succès l'eau additionnée de divers acides aminés et autres substances qui, selon LEONIAN, favorisent leur formation (milieu de PETRI, asparagine, leucine, acide aspartique etc.).

Selon MEHRLICH le *P. cinnamomi* formerait une grande quantité de sporanges lorsqu'on place le mycélium dans des extraits de terre non stériles, c'est la méthode qui a réussi à URQUIJO avec les souches isolées de châtaignier en Espagne. Cette technique s'est, elle aussi, révélée peu fructueuse au cours de nos essais.

Nous avons observé des sporanges sur de jeunes radicules de châtaigniers, élevées aseptiquement dans l'eau distillée et inoculées avec la souche B4. Avec la souche A9, nous avons aussi obtenu quelques organes mais uniquement dans des conditions non stériles. De toutes façons les résultats nous semblent trop aléatoires pour qu'il soit possible d'utiliser ce caractère pour distinguer les deux espèces. Les mensurations effectuées sur les sporanges obtenus avec B4 et A9 donnent : A9 (*P. cinnamomi*) $75-90 \mu \times 30-45 \mu$; B4 (*P. cambivora*) $36-65 \mu \times 28-46 \mu$. La différence de longueur est très nette, mais, depuis les travaux de LEONIAN on sait qu'il ne peut être question de donner une valeur discriminatoire aux dimensions des sporanges, aussi ne donnons nous ces chiffres qu'à titre indicatif.

Les sporanges des deux espèces sont du type « multiple » ; lorsque le premier organe s'est vidé de son contenu par émission de zoospores, un second se forme à l'intérieur des parois du premier, on peut voir jusqu'à 6 membranes emboîtées les unes dans les autres. C'est ce caractère qui avait permis à PETRI de créer le genre *Blepharospora*. De plus le pédicelle continue souvent à croître à travers le sporange vide selon le phénomène appelé prolifération. Il n'y a pas de papille à l'extrémité apicale du sporange et la germination a toujours lieu par zoospores (fig. 23 et 24).

VI. — DÉVELOPPEMENT SUR LE TUBERCULE DE POMME DE TERRE AINSI QU'É SUR DIFFÉRENTS FRUITS.

Selon TUCKER, seul le *P. cinnamomi* est susceptible de se développer sur tubercule de pomme de terre. Nous avons appliqué ce test à nos souches de *Phytophthora*

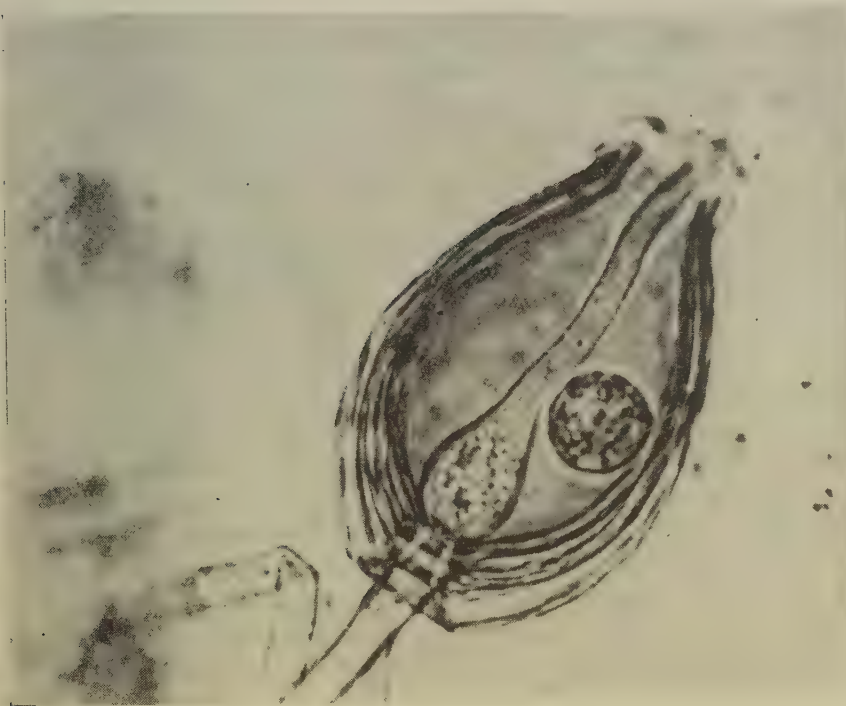


FIG. 24. — Zoospore de *P. cinnamomi* A 9. Remarquer la prolifération du pédicelle à l'intérieur du sporange vide et une zoospore non germée restée dans le sporange (sur plantule aseptique inoculée) X 650.



FIG. 23. — Zoospore de *P. cinnamomi* A 9. Remarquer les membranes vides des sporanges précédemment formés emboîtées les uns dans les autres ainsi que la zoospore dont le tube germinatif est dirigé vers l'intérieur du sporange vide (sur plantule aseptique inoculée) X 650.

avec toujours un égal succès ⁽¹⁾. Comme les rameaux de noyer maintenus en survie, le tubercule se comporte comme un milieu inerte sur lequel toutes les souches se développent plus ou moins rapidement. Nous avons inoculé de la même manière des pommes arrivées à maturité appartenant à plusieurs variétés (Jonathan, Cox Orange, Reinette du Mans, Calville etc.). Les résultats sont très irréguliers : la réussite de l'inoculation semble dépendre avant tout de l'état physiologique du fruit dont la teneur en acides est sans doute déterminante. L'inoculation sur fruits de tomate verts ou à maturité ne donne aucun résultat.

Nous ne pensons donc pas que ce critère ait une valeur suffisante pour être retenu dans la classification ; une critique en a d'ailleurs déjà été faite par MEHRlich.

AUTRES CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS

I. — RÉSISTANCE A DIVERS COMPOSÉS CHIMIQUES.

URQUIJO admet une différence de comportement des deux espèces vis à vis du sulfate de cuivre, le *P. cambivora* étant inhibé par 5. p. p. M. alors que le *P. cinnamomi* résiste à 50 p. p. M. Les souches que nous avons étudiées résistent presque toutes à 20 p. p. M. et certaines à 50 p. p. M. (A6 en particulier). La souche de *P. cambivora* de PETRI (BB) résiste à 10 p. p. M. mais à 20 p. p. M. le développement est très restreint. Par contre le *P. cinnamomi* AF ne résiste pas à 20 p. p. M. Devant ces résultats, nous n'avons pas poussé plus loin les essais. Nous avons également étudié, sans plus de succès pour la découverte des caractères différentiels, la résistance à divers produits : phénol, formol, chlorure mercurique, chlorure de méthoxy-éthylmercure. Pour certains produits, les *P. cambivora* sont moins résistants que les *P. cinnamomi*, pour d'autres antiseptiques c'est l'inverse (composés du mercure).

II. — INFLUENCE DU pH.

L'influence du pH a été étudiée dans les milieux liquides contenant du glucose ou du maltose. On ajuste la réaction au moyen de tampons de phosphates. Les essais ont été faits à pH. 2,9-3, 8-4, 7-5, 7-6, 3-7, 2-7, 8-8, 5-9, 2. On constate que l'optimum de croissance pour les *P. cinnamomi* est situé à pH 3,8 (AX. A1. A9) et 4,7 (AF. A2.) alors que pour le *P. cambivora*, il est de 6,1 (BB. BP.) et 7,2 (B1. B4).

La variation selon les souches semble faible mais nous n'avons pas encore pu étudier ce caractère sur toutes celles dont nous disposons. Notons que le développement des deux espèces a lieu jusqu'à pH 3,8 inclusivement et que à pH. 9,2, il est encore très appréciable.

L'influence du milieu est également très importante pour la détermination précise du pH optimum. Au cours de la croissance, le milieu s'acidifie très notablement et, lorsque le champignon occupe tout le volume du liquide à sa disposition, le pH peut décroître jusqu'à 4,6 ou 3,2 selon le pH de départ. Cette acidification a été cons-

⁽¹⁾ On pratique l'inoculation en enlevant un petit cylindre de tubercule au moyen d'un emporte-pièce. On place ensuite dans le trou, une rondelle prélevée dans la marge d'une culture sur plaque de gélose. On rebouche et on fixe une bande adhésive sur la blessure pour éviter la dessiccation. On place le tubercule à 24°.

tatée dans les milieux insuffisamment tamponnés. Dans les milieux tamponnés, elle est plus faible. Pour l'éviter, il faut utiliser de grands volumes de milieu (200 cc) et ne laisser le parasite se développer que 4-5 jours.

L'étude des diverses sources hydrocarbonnées en relation avec l'influence du pH et l'acidification du milieu est en cours.

III. — RÉACTIONS MICROCHIMIQUES DES PAROIS.

La structure chimique des parois mycéliennes des *Phytophthora* a été étudiée par THOMAS qui a montré que sur un squelette de chitine se superposaient des couches de celluloses de plusieurs types imprégnées d'acides gras, le tout recouvert de mélanges complexes de pentoses et d'hexoses. Un des caractères évoqués par GERDEMANN pour la création de l'espèce *P. sojae* est précisément la réaction de la cellulose au chloroiodure de zinc, particulièrement vive chez cette dernière espèce.

Nous avons essayé les divers tests pour la détection de la cellulose sur toutes les souches dont nous disposions. Aucune ne donne de coloration au chloroiodure de zinc ⁽¹⁾ ou de calcium. L'iode en milieu sulfurique donne des teintes allant du bleu au brun selon les souches. La benzoazurine ne colore pas la membrane. Dans le mycélium, la cellulose est masquée, très probablement, par les acides gras. En effet, après saponification à la potasse alcoolique à 10 p. 100, les réactions de la cellulose se produisent normalement et des différences entre les deux espèces peuvent être mises en évidence par l'emploi de la benzoazurine en solution aqueuse à 1 p. 100. Le mycélium du *P. cambivora* se colore presque instantanément en rose virant progressivement, en quelques minutes au pourpre vif, puis, après plusieurs heures, au violet. Par contre, le mycélium du *P. cinnamomi* se colore lentement au mauve pâle.

La variation selon les souches est assez importante. La souche BB (*P. cambivora* de PETRI) présente la réaction la plus vive et la plus nette. Les souches BP, B1 à B4, DB donnent une coloration rose plus faible. Parmi les *P. cinnamomi*, les souches AF et AE donnent une coloration bleue violacée très nette, les autres souches de *P. cinnamomi* donnent des colorations plus faibles.

Nous savons que la membrane contient des mélanges de plusieurs types de cellulose, il se peut que les proportions des constituants soient légèrement différentes dans les deux espèces.

DISCUSSION

La classification des *Phytophthora* reste confuse et entachée d'un certain arbitraire par suite du polymorphisme des espèces. Dans le cas particulier des distinctions entre le *P. cambivora* et le *P. cinnamomi*, les travaux d'ASHBY avaient fait penser que les modalités de la reproduction sexuée fourniraient des éléments de base plus solides pour la classification. C'est pourquoi WATERHOUSE considère que les conditions de formation des œufs dans les cultures associées sont de la plus grande importance taxonomique.

Il est certain que l'obtention des organes sexués et de la descendance permettrait la distinction entre espèces pures et hybrides interspécifiques et faciliterait

(1) Seules les anthéridies se colorent en bleu aux réactifs iodés.

une classification naturelle. Il faudrait évidemment pouvoir obtenir à coup sûr, et pour toutes les souches, les organes sexués et leur descendance. Malheureusement trop de facteurs déterminants sont encore inconnus.

Lorsque le déterminisme de la sexualité sera connu, il sera en outre possible de trouver dans la morphologie et la physiologie des oogones, anthéridies et oosphères, des éléments plus sûrs pour la taxonomie, que ceux qui résultent de l'examen de l'appareil végétatif, si sensible à l'influence du milieu.

Les premières études relatives à la cytologie des *Phytophthora* nous ont montré que les organes de multiplication végétative et de reproduction sexuée sont très souvent plurinuclés ; l'hybridation ayant été prouvée, il en résulte que le thalle peut être de nature hétérocaryotique, ce qui complique singulièrement le problème.

Pour l'instant, la seule position raisonnable est de distinguer les espèces qui peuvent être déterminées par l'usage des clés même si ce ne sont là que des instruments imparfaits. Cependant, il convient de limiter la valeur réelle d'une telle façon de procéder où la conception linnéenne de l'espèce n'est pas respectée.

De l'étude qui précède apparaissent, en ce qui concerne la séparation des espèces, certains caractères utilisables tandis que d'autres, préconisés par différents auteurs, n'ont pas une fixité suffisante.

Pour une distinction rapide et précise on doit retenir :

a) L'aspect et la structure du mycélium pour le *P. cambivora* et le *P. cinnamomi*. Tandis qu'il est lisse et de diamètre homogène pour la première espèce, il est verruqueux pour la seconde espèce, où des vésicules et des chlamydospores se forment en outre en grande quantité. Ce caractère varie peu selon les souches, et relativement peu selon le milieu si on prend la précaution de ne considérer que les jeunes extrémités des hyphes. Il faut se placer dans les conditions optimum pour l'observation ; c'est-à-dire en culture sous lamelle, dans des milieux de concentration moyenne en sucres (1 à 2 p. 100 de glucose).

b) Un caractère plus précis est la résistance au vert malachite dans des milieux très acides et dépourvus de matières azotées. Les concentrations de 0,5-0, 0,25-0,125 p. p. m. permettent de distinguer le *P. cambivora*, qui ne développe pas à 0,25 p. p. m., du *P. cinnamomi* qui pousse à cette concentration et souvent même à 0,5 p. p. m. La fluctuation selon les souches est peu importante et n'empêche jamais la détermination.

c) L'influence du pH sur la croissance pourrait peut être servir de critère de discrimination si la physiologie du champignon était mieux connue. Il en est de même de la réaction de la membrane des hyphes vis à vis de la benzoazurine.

d) L'étude de la reproduction sexuée tend à confirmer les conclusions de WATERHOUSE selon lesquelles les souches de *P. cambivora* forment leurs oogones dans les cultures associées avec le *P. parasitica*, et les *P. cinnamomi*, avec le *P. cryptogea*, ASHBY avait observé la formation d'œufs de *P. cinnamomi* avec le *P. parasitica* mais ce phénomène aberrant n'a pas été observé dans nos essais.

Il n'est toutefois pas possible de baser les déterminations sur ces modalités d'obtention des organes sexuels, car certaines souches ne forment pas d'oogones avec les espèces tests.

Les modalités de développement des appareils de reproduction sexuée nous montrent que l'hybridation est fréquente. Ceci tendrait à faire admettre un certain hétérothallisme, sans exclure pour autant la possibilité d'une stimulation chimique

entre les deux espèces mises en présence. Nous n'avons pas pu obtenir d'œufs dans les milieux liquides même lorsque les mycéliums des deux thalles étaient en contact. Les *Phytophthora* étudiés diffèrent donc des *P. parasitica* avec lesquels KOUVEAS a pu détecter les indices d'un stimulus de nature chimique.

La fixité des caractères pour chacune des souches étudiées semble être notablement plus grande que dans le cas du *P. cactorum*, avec lequel différents auteurs ont obtenu des mutations spontanées ou provoquées. Nous n'avons pas observé l'apparition de secteurs mutants dans nos cultures. Il resterait à étudier le problème de la mutation par irradiation selon la technique employée par BUDDENHAGEN.

Par contre il ne paraît pas possible d'utiliser, pour séparer les espèces, certains caractères morphologiques et physiologiques tels que :

a) Les caractères morphologiques des sporanges, et les conditions de leur formation. Non seulement l'obtention de ces organes est délicate et irrégulière, mais encore leur morphologie est fluctuante.

b) Le développement sur le tubercule de pomme de terre ne peut non plus être retenu, car il varie selon les souches et se trouve sous l'influence de conditions externes mal définies. Il en est de même de la résistance à certains composés chimiques (produits cupriques).

c) La température optimum pour le développement est un caractère torp fluctuant d'une souche à l'autre pour être pris en considération. De plus les souches françaises manifestent des optima plus bas que ceux des souches de référence de même espèce. Pour le *P. cambivora* il existe, contrairement aux résultats de TUCKER un optimum moins élevé que pour le *P. cinnamomi*. Nous noterons que la détermination exacte des températures cardinales est extrêmement délicate et ne peut être faite avec la précision souhaitable.

L'étude de la systématique et de la génétique des *Phytophthora* n'est pas dénuée d'intérêt pratique sur le plan agricole. En effet, on assiste à l'apparition de souches parasites pour des hôtes réputés autrefois résistants ; *Phytophthora* parasites des Conifères aux U. S. A., du chêne en France etc. Leur génèse pourrait être prévue si on connaissait son déterminisme. La connaissance des potentialités évolutives des *Phytophthora* sur le plan de la virulence aurait des répercussions profondes sur le remplacement des essences sensibles dans les terrains contaminés et sur la sélection de plants résistants.

Reçu pour publication le 21 octobre 1960.

RÉSUMÉ

1° La maladie de l'Encre du châtaignier peut être causée par deux *Phytophthora* : le *P. cambivora* et le *P. cinnamomi*. Cette multiplicité des espèces déterminant une même maladie chez un hôte donné n'est pas spéciale au châtaignier et on a pu la mettre en évidence dans le cas du noyer. Une meilleure connaissance des affinités entre les diverses formes du *Phytophthora* est donc nécessaire.

2° Les études ont porté sur un matériel composé de cultures de *P. cambivora* et *P. cinnamomi* provenant de mycothèques, auxquelles on a comparé toute une série de souches isolées en France de châtaigniers et de noyers atteints de maladie de l'Encre. Les critères de détermination donnés par les clés de TUCKER, LEONIAN et WATERHOUSE, ont été appliqués en cherchant à déterminer les limites de la variabilité et ses causes.

3° La morphologie du mycélium : lisse chez le *P. cambivora* et verruqueux chez le *P. cinnamomi* est le caractère différentiel le plus sûr et le plus accessible. Les conditions dans lesquelles il doit être observé, ont été précisées.

4° La température optimum pour le développement varie de 18 à 24° pour les *P. cambivora* et de 22 à 29° pour les *P. cinnamomi*, la fluctuation est trop grande pour que ce critère soit utilisable. Ces résultats ne concordent pas avec ceux de TUCKER.

5° La formation des organes sexuels en cultures associées se réalise selon les règles énoncées par WATERHOUSE, mais l'obtention des œufs est soumise à des facteurs mal connus et n'a pas lieu pour toutes les souches. Ce critère ne peut donc servir à classer l'ensemble des formes rencontrées. Des observations ont été faites sur les modalités de formation des oogones et anthéridies ainsi que sur leur morphologie. Les mécanismes de formation de l'anthéridie amphigyne et l'hybridation entre le *P. cambivora* et le *P. parasitica* ont été mis en évidence.

6° La résistance au vert malachite aux concentrations de 0,50-0,25-0,125 p. p. M. permet une détermination certaine sous réserve d'opérer dans les conditions précisées par cette étude.

7° La « virulence » vis à vis du tubercule de pomme de terre n'est pas un caractère sur lequel on puisse fonder une distinction sûre, il en est de même des conditions de formation et de la morphologie des sporanges.

8° Les autres caractères étudiés : influence du pH, constitution chimique des membranes, résistance à divers produits pourraient fournir des éléments de classification si la physiologie du parasite était mieux connue.

9° Les souches étudiées montrent une grande fixité et aucune mutation n'a été observée. Le facteur de variabilité le plus important est vraisemblablement l'hybridation. La connaissance du déterminisme de la reproduction sexuée et l'obtention des descendances manquent encore pour aboutir à une taxonomie précise du genre *Phytophthora*.

10° Provisoirement, on peut considérer comme distinctes les deux espèces, sur la base des caractères morphologiques du mycélium et de la résistance au vert malachite, les autres caractères pouvant apporter éventuellement des confirmations.

11° La souche BD, isolée en Corrèze par DUFRENOY et attribuée tout d'abord à *P. cambivora*, doit être rangée en fait dans l'espèce *P. cinnamomi* sous l'indicatif AD.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements s'adressent particulièrement à Mr le Professeur VIENNOT-BOURGIN pour les précieux conseils qu'il m'a donnés dans la réalisation de ce travail et la critique constructive qu'il a apportée à la rédaction du manuscrit.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALLAIN A., 1953. Contribution à l'étude du *Phytophthora cambivora*. *C. R. Soc. Biol.*, **93**, 1405-1407.
 ALLAIN A., 1934. La formation des œufs du *Phytophthora cambivora* en culture pure. *C. R. Soc. Biol.*, **115**, 1521-1523.
 ASHBY S. F., 1929. Further note on the production of sexual organs in paired cultures of species and strains of *Phytophthora*. *Br. Myc. Soc. Trans.*, **14**, 254-260, 2 figs.
 ASHBY S. F., 1929. The production of sexual organs in pure cultures of *Phytophthora cinnamomi* Rands and *Blespharospora camoiwora* Pétri. *Br. Myc. Soc. Trans.*, **14**, 260-263.
 BUDDENHAGEN I. W., 1958. Induced mutations and variability in *Phytophthora cactorum*. *Amer. J. Bot.*, **45**, 355-65.
 BUISMAN C., 1927. Roots rots caused by Phycomycetes. *Th. Univ. Utrecht.*, **88**, 51 p., 2 pl., 12 figs.
 COOKSON I. C., 1929. An account of a crown rot of british Walnut trees in Victoria. *Roy. Soc. Victoria Proc. (N. S.)*, **47**, 5-15.
 CRANDALL B. S., GRAVATT 1945. Root disease of *Castanea* species and some coniferous and broadleaf nursery sotcks caused by *P. cinnamomi*. *Phytopathology*, **35**, 162-180.
 CURZI M., 1933. La *Phytophthora (Blepharospora) cambivora* Petri sul Noce. *Rendic. R. Acad. Lincei.*, **18**, 587-592.
 DAY W. R., 1938. Root-rot of sweet Chesnut and Beech caused by species of *Phytophthora*. Il cause and symptoms of disease. Ils relations to soil conditioms. *Forestry*, **12**, 101-116.
 GOICOECHEA D. J., 1949. Memoria sobre la enfermedad del Castano. Bilbao 1900. In ELORIETTA, *El Castano en Espana* Madrid.
 GRENTE J., 1952. Le *Phytophthora cinnamomi*, parasite du châtaignier en France. *C. R. Acad. Sci.*, **234**, 2296-2298.
 GRENTE J. La maladie de l'Encre du châtaignier. I. Étiologie et Biologie. *Ann. Epiph.* (Sous presse).
 KAUFMANN-GERDEMANN, 1958. Root and stem rot of soybean caused by *Phytophthora sojae* n. sp. *Phytopathology*, **48**, 201-298.
 KOUYEAS V., 1953. On the sexuality of *Phytophthora parasitica* Dastur. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki.*, **7**, 40-53.
 LEONIAN L. H., 1925. Physiological studies of the genus *Phytophthora*. *Amer. J. Bot.*, **12**, 444-498.

- LEONIAN L. H., GEER H. L., 1929. Comparative value of the size of *Phytophthora* sporangia obtained under standard conditions. *J. Agr. Res.*, **39**, 293-311.
- LEONIAN L. H., 1934. Identification of *Phytophthora* species. *Agr. Exp. Sta. Col. Agr. West Virginia Univ.*, Bull. 262.
- MEHRICH F. P., 1935. Non sterile soil leachates stimulating to zoosporangia production by *Phytophthora* sp. *Phytopathology*, **25**, 432-435.
- MEHRICH F. P., 1936. Pathogenicity and variation in *Phytophthora* causing heart rot of pineapple plants. *Phytopathology*, **26**, 23-43.
- MILBURN M., GRAVATT G. F., 1932. Preliminary note on an *Phytophthora* root disease of chesnut. *Phytopathology*, **22**, 977-978.
- MOREAU C., MOREAU M., 1952. Étude mycologique de la maladie de l'Encre du chêne. *Rev. Path. Veg. Ent. Agr. Fr.*, **30**, 201-231.
- PETRI L., 1917. Ricerche sulla morfologia et biologia della *Blepharospora cambivora*, parassita del castagno. *Rend. R. Ac. Lincei*, **26**, 287-299.
- PETRI L., 1930. La formazioce degli organi della riproduzione sessuale della *Phytophthora* (*Blepharospora cambivora*) in culture pure. *Boll. Sta. Pat. Veg. Roma*, **10**, 361-365.
- PETRI L., 1936. Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1935. *Boll. Sta. Pat. Veg. Roma N. S.* **16**, I, 1-25.
- PIMENTEL A. A. L., 1947. A *P. cinnamomi* Rands, un outro agente extemamente virulento, da « doença da tinta » do Castanheiro. *Agron. Lusit.*, **9**, 181-191.
- PONTISVIDELA R. E., 1943. El « mal de la tinta » del nogal en la Republica Argentina, *Rev. B. A. P.*, **27**, 313, 31-33.
- STAMPS J., 1953. Variation in a strain of *Phytophthora cactorum*. *Br. Myc. Soc. Trans.*, **36**, 248-254.
- STAMPS J., 1953. The oospore production in paired cultures of *Phytophthora* species. *Br. Myc. Soc. Trans.*, **36**, 255-259.
- THOMAS R. C., 1943. Composition of fungus hyphae IV : *Phytophthora*. *Ohio J., Sci.*, **43**, 135-138.
- TUCKER C. M., 1931. Taxonomy of the genus *Phytophthora* de Bary. *Missouri Agr. Exp. Sta. Res. Bull.*, **153**.
- URQUIJO L. P., 1942. Nuevas investigaciones sobre la enfermedad de la « tinta » del castano. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. Madrid*, **11**, 1-30.
- URQUIJO L. P., 1946. Sobre les diferentes estirpes de *P. cambivora* (Petri) Buisman y su distinta resistencia al cobre. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. Madrid*, **14**, 315-320.
- URQUIJO L. P., 1947. Revision taxonomica de los hongos productores de la enfermedad del Castano llamada de la tinta. *Bol. Pat. Veg. Ent. Agr. Madrid*, **15**, 253-270.
- SMITH C. O., BARRETT J. T., 1931. Crown rot *Juglans* in California. *J. Agr. Res.*, **43**, 885-904.
- WATERHOUSE G., 1954. Key to the species of *Phytophthora* recorded in the british isles. *Mycologia*, **57**.
- WHITE R. P., 1937. Rhododendron wilt and root rot. *N. J. Agr. Exp. Sta. Bull.* 615.

ÉPREUVE DE LA RÉSISTANCE A L'ENCRE ET A L'ENDOTHIA SUR DES CULTURES DE TISSUS DE CLONES DE CHATAIGNIER

J. GRENTE et S. SAURET.

Laboratoire de Pathologie végétale,
Centre de Recherches agronomiques du Massif central, Clermont-Ferrand.

Dans le but d'étudier de nouvelles méthodes d'épreuve de la résistance aux maladies de l'Encre et de l'*Endothia* chez le Châtaignier, on a fait des inoculations sur des cals cambiaux.

La prolifération du cambium est facilement obtenue en plaçant des fragments de tige dans du sable humide pendant l'hiver. Malheureusement, à une température permettant le développement des parasites, la flore saprophyte se développe à une telle rapidité que les résultats des inoculations sont entièrement faussés.

Il semble cependant y avoir, dans les quelques expériences réussies par cette méthode, une corrélation positive entre la sensibilité et le noircissement du cal après inoculation. Ce fait nous avait été déjà signalé par le Professeur VIEITEZ ⁽¹⁾.

Nous avons pensé qu'il serait plus fructueux d'opérer sur des cals cambiaux obtenus dans des conditions aseptiques ou mieux, sur des cultures de tissus. Les observations faites dans ces expériences ont permis d'entrevoir des relations très importantes entre l'expression de la résistance et les conditions physiologiques.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

On a utilisé deux clones de Châtaignier multipliés par la Station du Châtaignier de Brive, le clone M 15 (*Castanea crenata* x *C. sativa*) obtenu par DUFRENOY au début du siècle, résistant à l'Encre dans les inoculations en pépinière pendant la période végétative et le clone St. Maixent, (*C. sativa* de Corrèze) qui est, au contraire, sensible.

Les cultures de tissus sont effectuées sur milieu de KNOP, ou de HELLER glucosé, auquel on ajoute des microéléments ainsi que les facteurs de croissance suivants : Acide naphtyl-acétique 10^{-8} , Panto-thénate de Ca 10^{-5} , Chlorhydrate de Cystéine 10^{-8} , Aneurine 10^{-8} , Mesoinositol 10^{-8} (ces concentrations se sont montrées optimales). La concentration de glucose optimum est de 2. p 100 pour le M. 15 et 5 p. 100 pour le St. Maixent. La température la plus favorable est de 30° C. Les explantats se développant mal en milieu liquide, on a dû utiliser des milieux gélés.

L'inoculation est pratiquée par dépôt sur le cal d'un fragment de colonie du parasite, la culture est ensuite placée à la température de 24° permettant le développement du champignon dans une étuve obscure ou éclairée selon les cas.

(1) P^{tr} VIEITEZ mission biologique Pontevedra, correspondance personnelle.

Les cultures sont soumises pendant leur développement à diverses conditions d'éclairement :
 a) Obscurité continue depuis le repiquage jusqu'à l'inoculation. b) Lumière continue de tubes fluorescents. c) Obscurité pendant 30 jours puis lumière continue pendant le même temps.

RÉSULTATS OBTENUS

A. — *Inoculations avec le *p. cinnamomi* 871 et résistance à la maladie de l'Encre.*

Les cultures utilisées étaient âgées de 15 à 96 jours. En effet, trop jeunes, les explantats sont encore sous le coup de la crise du repiquage et trop âgés, ils présentent de nombreux points nécrosés qui gênent les observations. L'âge optimum est compris entre 50 à 70 jours.

Après l'inoculation, les cultures produites à l'obscurité sont envahies très rapidement par le parasite. Celui-ci se développe sur le cal ainsi qu'à la surface du milieu de culture. Les explantats se nécrosent rapidement surtout ceux du clone St Maixent.

Les cultures obtenues à la lumière continue donnent lieu aux mêmes observations avec toutefois une moindre rapidité de développement du *Phytophthora* et une nécrose moins rapide. La différence de comportement des deux clones est plus marquée.

Celles qui sont produites d'abord à l'obscurité puis à la lumière, ont un comportement très différent.

Les cals de St. Maixent brunissent en une dizaine de jours puis se nécrosent rapidement ; le parasite se développe sur l'explantat et à la surface du milieu. Au contraire, les colonies de M. 15 se couvrent d'abord de minuscules points bruns puis leur surface devient rouge cependant que le parasite ne pousse que très peu ; au bout de 15 jours, la croissance des tissus reprend donnant un cal de couleur claire ayant l'apparence des tissus non inoculés ; quelques rares filaments du champignon sont visibles à la surface de la colonie, mais il n'y a pas de développement à la surface du milieu, par contre le *Phytophthora* envoie un mycélium abondant dans la profondeur du milieu. Dans nos tentatives pour repiquer les tissus formés après reprise de l'activité de la culture, le parasite a toujours pris le dessus et l'essai a échoué.

B. — *Inoculations avec l'Endothia parasitica.*

Les essais effectués sont trop peu nombreux pour donner lieu à des conclusions sûres mais il semble que les phénomènes soient les mêmes.

DISCUSSION

Ces expériences préliminaires montrent que la résistance du clone M. 15 éprouvée en pépinière, se manifeste dans les cultures de tissus obtenues à l'obscurité puis placées à la lumière continue. Elle ne peut s'extérioriser dans celles qui sont produites à l'obscurité ou à la lumière continue, depuis le repiquage jusqu'à l'inoculation. L'éclairement de la culture après inoculation n'a aucune répercussion sur les résultats.

Ces faits ont été observés dans tous les essais sur cals cambiaux (aseptiques ou non). Ils doivent être mis en parallèle avec certains résultats obtenus dans des expériences en pépinière qui feront l'objet d'une publication spéciale et dans lesquelles, des plants de M. 15 ont résisté dans les conditions normales alors qu'il se sont montrés sensibles après défeuillaison artificielle ou à l'obscurité.

On peut donc penser que l'extériorisation de la résistance est sous l'influence des conditions physiologiques : photosynthèse ou processus demandant l'intervention de la lumière.

La résistance est vraisemblablement sous la dépendance de corps voisins des tanins et d'hétérosides variés dans la formation desquels la lumière joue un rôle important. Nous avons constaté dans nos essais d'inoculation que le milieu de culture brunissait plus ou moins selon les cas par diffusion de polyphénols s'oxydant à l'air. Des études sont en cours pour l'identification des substances mises en jeu par les phénomènes de résistance.

Reçu pour publication le 21 Octobre 1960.

OBSERVATIONS SUR LE COMPORTEMENT DES PLANTS DE CHATAIGNIER APRÈS INOCULATION DE L'ENDOTHIA PARASITICA

J. GRENTE

*Laboratoire de Pathologie végétale,
Centre de Recherches agronomiques du Massif Central, Clermont-Ferrand.*

Pour la recherche de types et variétés de Châtaigniers résistant à l'*Endothia parasitica*, on est amené à pratiquer des inoculations en série dans le but d'éprouver les plants sélectionnés. Le travail a été entrepris en 1952, en serre, et depuis 1956, en pépinière expérimentale. On a pu faire un certain nombre de constatations concernant la diversité des réactions selon les individus inoculés et leur signification sur le plan de la résistance.

Le principal problème est de savoir quel sera le comportement pratique d'un plant vis à vis de l'*Endothia parasitica*, d'après ses réactions à l'inoculation d'épreuve en pépinière.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les plants utilisés proviennent de semis de châtaignes obtenues par fécondation libre des géniteurs de la Station d'Amélioration du Châtaignier et du Noyer de Brive : P. 14, P. 41, M. 49, (*C. crenata* X *C. sativa*) ; en outre des observations ont pu être faites sur des descendances de *C. mollissima* M. 75. et de *C. crenata* M. 26 Après diverses sélections, notamment élimination des types sensibles à l'Encre (*Phytophthora*), les plants âgés de 3 ans ont été mis en pépinière à Lalevade d'Ardèche et inoculés au printemps 1957 ; des inoculations de contrôle ont été pratiquées en 1958, 1959, 1960 ⁽¹⁾.

Les réactions des plants ont été observées au cours des 3 années à diverses reprises ⁽²⁾.

RÉSULTATS OBTENUS

I. — TYPES DE RÉACTIONS.

Quelques mois après l'inoculation, on peut constater que de nombreux plants présentent des chancres importants entraînant la mort de toute la partie située au-dessus d'eux. Les tissus autour du point d'inoculation sont entièrement envahis

(1) La méthode d'inoculation consiste à introduire sous l'écorce de la tige, un fragment d'écorce prélevé sur un chancre et portant des éventails mycéliens du parasite (DARPOUX et al.) la plaie est ensuite protégée de la dessiccation par un buvard humide enrobé de chatterington.

(2) Un grand nombre d'observations ont été faites par C. RIOU, Agent Technique de la Direction des Services Agricoles de l'Ardèche spécialement chargé de la lutte contre l'*Endothia* dans ce département.

par le parasite ; l'écorce desséchée est affaissée, elle présente une coloration rouge caractéristique sur plusieurs dizaines de centimètres. A la dissection, on ne trouve pas les éventails mycéliens spécifiques de l'*Endothia parasitica*. Non seulement le champignon a trouvé un milieu très favorable à son développement, mais encore la plante ne lui a opposé aucune réaction d'hypertrophie ou d'hyperplasie. Nous classons de tels plants dans la catégorie des « Très Sensibles » (T. S.).

Chez d'autres plants, on constate, au niveau du point d'inoculation, l'affaissement de l'écorce, l'étranglement de la tige ; les régions avoisinantes montrent des signes de réaction par formation de boursouflures dues à l'hyperplasie des tissus, surtout à la partie supérieure du chancre (l'effet physiologique est analogue à celui d'une décortication annulaire). Le parasite est largement répandu dans les tissus, sous forme mycélienne banale dans la partie étranglée et sous forme d'éventails dans la partie où l'écorce a réagi. Tous les plants présentant ce type de chancre meurent au début du printemps suivant, souvent sans même émettre de feuilles. Nous les classons dans la catégorie des « Sensibles » (S).

Les survivants présentent des réactions diverses avec pour caractère commun l'absence d'étranglement au niveau de l'inoculation. Ils diffèrent en cela des Très Sensibles et Sensibles chez lesquels le parasite se développe rapidement sans que les tissus réagissent.

Les plants qui ne présentent pas l'étranglement sont susceptibles d'une survie plus ou moins longue. Dans le but d'étudier leur comportement nous les avons classés selon deux critères.

a) *Intensité du développement de la lésion.*

Dans certains cas, le parasite se localise à de petits îlots ponctiformes ne dépassant pas 1 mm de diamètre, visibles uniquement à la dissection et répartis dans le voisinage immédiat de la lésion d'inoculation ; il ne se signale pas extérieurement par les taches rouges caractéristiques de la maladie.

Dans d'autres cas le parasite, visible extérieurement par la présence de taches rouges sur l'écorce, est présent sous forme d'îlots de 5 à 6 mm de diamètre, répartis dans une zone de 3 à 4 cm autour du point d'inoculation ; on y trouve les éventails mycéliens typiques de l'*Endothia*. Ces deux modalités de développement seront désignées respectivement par les symboles A et B.

b) *Intensité des réactions corticales.*

Dans un cas comme dans l'autre les réactions de l'écorce peuvent être fort différentes :

Sur certains plants, on constate une cicatrisation de la plaie d'inoculation sans boursouffure ni augmentation de diamètre ; au bout de 2 ans la trace de la blessure d'inoculation est difficilement décelable.

Chez d'autres, l'écorce présente un renflement net au niveau du point d'inoculation ; il n'y a cependant pas de fentes longitudinales ni de craquelures importantes. Le chancre se limite à un fuseau plus ou moins développé mais sa surface est lisse et peu différente de celle des régions avoisinantes de la tige.

Sur les autres plants, l'hypertrophie et l'hyperplasie des tissus corticaux est

très importante ; il se forme un gros fuseau dont la surface est sillonnée de crevasses longitudinales, très profondes si le parasite se développe (catégorie B précédente), ou superficielles dans le cas contraire (catégorie A). Ces diverses réactions sont désignées respectivement par les symboles 0, 1, 2, indiquant des réactions corticales d'intensité croissante.

La combinaison des divers types de réaction corticale avec les deux développements possibles du parasite conduit donc à distinguer 6 classes Ao, A1, A2, Bo, B1, B2.

Les deux classifications ne sont pas totalement indépendantes. Si on compare les chiffres du tableau 1 indiquant la répartition de 250 chancres dans les 6 classes, on s'aperçoit que, par rapport aux chiffres que l'on serait en droit d'attendre si les deux classifications étaient indépendantes, on trouve 12 plants en plus dans la classe A2, et 7 dans la classe Bo. Ceci indique que les plants où le parasite se développe mal, présentent le plus souvent des réactions importantes, et inversement, ceux dont les tissus sont favorables à l'*Endothia* leur opposent, en général, peu de réaction corticale. Néanmoins, ce n'est là qu'une tendance, tous les cas pouvant se produire.

TABLEAU I.

Répartition des plants dans les 6 classes de réaction.

Réactions corticales	Développement du parasite				Total
	Faible : A Nombre		Fort : B Nombres		
	Observés	Théoriques (1)	Observés	Théoriques (1)	
Forte : 2	83	71	19	31	102
Faible : 1	62	67	33	28	95
Nulle : 0	31	38	22	15	53
Total	176		74		250

(1) Nombre théorique de plants d'après les distributions de fréquences marginales, dans l'hypothèse de l'indépendance des deux critères de classification.

II. — COMPORTEMENT DES PLANTS AU COURS DES 3 ANNÉES.

Les plants ainsi classés au début de la 2^e année (printemps 1959) ont été observés pendant 2 saisons consécutives ; à la fin de l'année 1959, ils ont subi une transplantation. En septembre 1960, on pouvait constater trois types de comportement :

a) Un certain nombre de plants paraissaient sains, le chancre s'était cicatrisé et la trace de l'inoculation n'était plus visible que par la présence d'un léger renflement. A la dissection on s'apercevait que la plante s'était affranchie du parasite.

b) D'autres étaient atteints de chancres peu développés sans plages rouges importantes et ne provoquant pas le déclin de la partie située au-dessus d'eux.

c) Enfin, un grand nombre de plants présentaient des chancres qui affaiblissaient notablement la partie supérieure ou même avaient entraîné sa mort. Ces trois

catégories désignées par les symboles R (Résistants), 1/2 R (1/2 Résistants) et A. S. (Assez Sensibles).

Le tableau 2 donne le nombre de plants et les pourcentages correspondants pour chacune des 6 classes.

TABLEAU 2.

Répartition des Résistants, 1/2 Résistants, et Assez Sensibles dans les 6 classes de réaction.

Classes	Résistants		1/2 Résistants		Assez sensibles		Total
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%	
A2	60	72,2	16	19,2	7	8,6	83
A1	30	48,3	22	35,4	10	16,3	62
Ao	10	32,2	5	16,1	16	51,7	31
B2	0	0	8	42,1	11	57,9	19
B1	0	0	1	3,3	32	96,7	33
Bo	0	0	2	9	20	91	22
Total.....	100		54		96		250

Seules les 3 classes de la catégorie A contiennent des plants résistants dont le pourcentage varie dans le même sens que l'intensité des réactions corticales. Le maximum de chances de résistance a donc lieu lorsque sont réunies les deux conditions de faible aptitude de la plante à héberger le parasite, et de forte réaction de ses tissus à sa présence. La première condition est indispensable pour l'obtention de plants résistants ; les réactions corticales ne sont qu'un facteur favorisant mais ne suffisent pas à elles seules. Les plants demi-résistants sont en majorité dans les classes B2, A1, A2. Enfin, des plants sensibles peuvent se trouver dans toutes les classes. Il est donc impossible de décider à coup sûr du comportement des plants d'après la réaction obtenue après la première année d'épreuve.

DISCUSSION

On est amené à distinguer deux modalités de résistance chez le châtaignier. La première, que nous qualifierons de biochimique, consiste en une inaptitude des cellules à offrir un milieu favorable au développement du parasite. Il paraît vraisemblable qu'elle résulte de la présence dans les cellules, de composés chimiques toxiques pour le champignon et que nous cherchons actuellement à mettre en évidence.

NIENSTAEDT, après avoir étudié les tannins présents dans l'écorce, a pu entrevoir certaines relations entre la résistance et la concentration en tannins pyrogalliques, mais le mécanisme d'action n'a pas été complètement élucidé.

Des études de laboratoire en cours, nous portent à penser que des substances toxiques pour l'*Endothia*, préexistent dans la cellule des plants résistants mais à de très faibles concentrations et qu'elles se forment en quantité plus abondantes en présence du parasite. D'autre part, des expériences sur cultures de tissus montrent que la résistance est tributaire de l'activité physiologique puisqu'elle ne se manifeste

que dans certaines conditions de photopériode. Cette dernière observation est de nature à expliquer pourquoi les plants transplantés souffrent plus de la maladie que ceux qui sont laissés sur place, fait que nous avons toujours observé sur les pépinières.

Il est également possible que les cas de résistance « acquise » observés par le Pr BIRAGHI en Italie soient en relation avec une physiologie particulière des jeunes rejets de souches.

La seconde modalité de manifestation de la résistance est l'apparition de réactions corticales de lignification des cellules, de formation de cals cicatriciels et d'hyperplasie du parenchyme, phénomènes qui ont été décrits par BRAMBLE. Ces réactions ne suffisent pas à elles seules à assurer la survie de la plante, la primauté reste donc à la résistance biochimique.

Il est difficile, dans l'état actuel de nos connaissances, de juger du comportement futur des plants sélectionnés d'après les réactions au test d'inoculation. Il faut pour pouvoir émettre une opinion, observer les plants pendant plusieurs années consécutives. Il faut aussi compter avec les accidents physiologiques possibles qui pourraient abaisser momentanément la résistance de l'arbre.

On peut néanmoins se référer à des types de comportement connu comme ceux sélectionnés par GRAVES et qui ont été suivis en culture aux U. S. A. pendant plusieurs dizaines d'années. Nous avons comparé les réactions à l'inoculation de certaines de ces sélections américaines à celles de nos plants. On a constaté que ceux que nous classons R et 1/2 R sont au moins aussi satisfaisants que les américains de la classe I de GRAVES qui correspond à la résistance maximum observée par cet auteur.

Nous ne considérons comme utilisables que les plants classés dans la catégorie des Résistants. Les 1/2 Résistants peuvent fournir du matériel d'étude et d'hybridation mais ne conviennent pas pour la culture.

Le comportement des différents plants sera suivi dans les années à venir. Nous n'avons pas indiqué les proportions de Très Sensibles, Sensibles 1/2 Résistants, et Résistants car elles varient notablement d'un géniteur à l'autre et feront l'objet d'une publication spéciale.

Reçu pour publication le 21 Octobre 1960.

RÉSUMÉ

1° Des plants âgés de 3 ans provenant des descendance d'hybrides de *C. crenata* X *C. sativa* ont été inoculés avec l'*Endothia parasitica* en pépinière en 1957. Le comportement des plants a été suivi jusqu'en 1960.

2° Dans les mois qui suivent l'inoculation les plants très sensibles (T. S.) présentent des chancres qui entraînent leur mort à brève échéance.

3° Certains plants meurent au printemps suivant : ce sont les Sensibles (S.). De même que les Très Sensibles, ces plants offrent au champignon un terrain de développement très favorable et ne réagissent pas ou très peu à l'envahissement de l'écorce.

4° Certains plants survivent plusieurs années consécutives grâce à deux modalités d'expression de la résistance :

a) résistance biochimique due à la présence dans les cellules de produits limitant l'extension du parasite et,

b) résistance active, par formation de cals cicatriciels et hyperplasie des tissus corticaux.

5° La résistance biochimique permet seule l'existence de plants capables de cicatriser leur lésions et de s'affranchir du parasite ; les réactions corticales aident à ces processus.

6° La sélection de plants résistants ne peut être décidée d'après les résultats des inoculations qu'après plusieurs années d'observation en pépinière.

7° La physiologie de la plante joue un rôle important dans l'extériorisation de la résistance.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BIRAGHI A., 1954. Ulteriori notizie sulla resistenza di *Castanea sativa* Mill. nei confronti di *Endothia parasitica* (Murr.) And. *Boll. Staz. Veg. Roma.*, Ser. 3., **11**, (1953), 149-157.
- BRAMBLE W. C., 1936. Reaction of Chesnut bark to invasion by *Endothia parasitica*. *Amer. J. Bot.*, **23**, 89-94.
- DARPOUX H., RIDE M., BONDOUX P., 1957. Le chancre du Châtaignier causé par l'*Endothia parasitica*. *B. T. I.*, n° 123.
- GRAVES A. H., 1950. Relative blight resistance in species and hybrids of *Castanea*. *Phytopathology.*, **40**, 1125-1131.
- NIENSTAEDT H., 1953. Tannin as a factor in the resistance of Chesnut, *Castanea* s. p. p. to Chesnut blight fungus, *Endothia parasitica*. *Phytopathology.*, **43**, 32-38.
-

UN NOUVEL HELMINTHOSPORIUM SUR MAÏS DANS LE BASSIN PARISIEN ASPECT PRATIQUE DE LA QUESTION

P. MOLOT

Station de Pathologie végétale,
Centre de Recherches agronomiques du Sud-Ouest, Pont-de-la-Maye (Gironde).

Dans une précédente note (1), nous avons décrit les symptômes sur maïs d'un *Helminthosporium* nouveau, apparu pour la première fois en juillet 1958 à Versailles. Nous avons alors montré le caractère spectaculaire de cette maladie sur plusieurs lignées et apporté quelques précisions mycologiques en vue de déterminer l'agent responsable. Il s'agit d'un parasite nettement différent de *Helminthosporium turcicum* et présentant de nombreuses affinités avec l'espèce *carbonum*.

Dans cette étude, nous nous proposons d'envisager deux aspects pratiques des possibilités de lutte contre ce cryptogame, d'une part sa transmission par la semence, d'autre part sa virulence plus ou moins grande en fonction du matériel génétique offert.

I. — PROBLÈME DE LA TRANSMISSION PAR LA SEMENCE.

Le fait que les épis soient attaqués nous amène à aborder en premier lieu cet aspect de la question. Le matériel de base était constitué par un mélange de différentes sélections 1958 de Versailles issues de la population Lacauze.

Nous avons effectué des coupes dans des grains de maïs prélevés à partir de lots malades. La totalité des grains devenus noirâtres présentait des tissus internes complètement nécrosés, sans aucune chance de survie. Quant aux semences ne présentant aucun signe extérieur ou seulement quelques îlots foncés, il était possible de distinguer des filaments mycéliens cheminant entre albumen et péricarpe. Mais quelles étaient à partir de ces hyphes, les chances d'évolution du parasite ?

Nous avons donc procédé à deux essais de germination de ces grains douteux : le premier en boîte de Pétri, le second en serre. Un premier tri éliminait les grains très attaqués, recouverts d'une carapace noirâtre. Nous réalisions ensuite une désinfection superficielle du lot par trempage d'une minute dans l'alcool et flambage rapide.

La germination était conduite à 25° C sur buvard humide en boîte de Pétri

de 10 cm de diamètre (à raison de 25 grains par boîte). Le pourcentage de levée fut de l'ordre de 66 p. 100. Nous n'avons pas observé de racines anormales. Les 34 p. 100 restant n'ont émis ni radicule, ni tigelle et se sont progressivement recouverts de filaments noirâtres caractéristiques du parasite.

Un deuxième lot de base, identique au précédent, fut semé dans du terreau en serre à 25° C. Le pourcentage de germination se chiffrà à 55 p. 100. Les pieds ayant levé avaient un aspect tout à fait normal et parfaitement sain. Ce semis fut l'objet d'observations fréquentes jusqu'à la sortie des soies. Nous n'avons noté l'apparition d'aucun symptôme sur l'appareil foliaire, mais sur plusieurs pieds relativement jeunes (stade 3-4 feuilles), il nous est arrivé de constater au niveau du collet un manchon noirâtre constitué par les spores de l'agent pathogène. Le nombre de ces pieds était très faible, à peine 1 p. 100.

En dernière analyse, la probabilité de transmission de l'agent pathogène par la semence paraît extrêmement faible. Les grains très malades ne lèvent pas et, par conséquent, s'éliminent d'eux-mêmes. Quant aux autres, les plantules sortent de terre et ont une croissance normale. L'épidémie qui s'est produite à Versailles en juillet 1958, semble provenir de quelques rarissimes foyers constitués par de jeunes pieds attaqués au niveau du sol.

Etant donné le peu de chances de transmission de la maladie par les grains, il n'est pas étonnant que les auteurs américains considèrent comme sans effet pratique la désinfection des semences contre les *Helminthosporium carbonum*. (2,3)

II. — ESSAI DE SENSIBILITÉ VARIÉTALE.

Dans les conditions actuelles, le seul moyen de lutte consiste à tabler sur la plus ou moins grande sensibilité du matériel de sélection. En vue de renseigner le praticien, nous donnons ici un aperçu de la situation sanitaire à Versailles, en septembre 1958, soit deux mois après le début de l'attaque. Ce tableau récapitulatif a été établi avec le concours de M. LASCOLS de la Station d'Amélioration des Plantes de Versailles. Les notes de sensibilité à la maladie ont été affectées aux lignées seules et à titre purement indicatif nous avons mentionné en regard les hybrides doubles dans lesquels entrent les lignées sensibles. D'une façon générale, les variétés commerciales ne portaient aucune trace de maladie.

La note 0 a été donnée aux lots exempts de maladie, et la note 10 à ceux dont tous les pieds sont attaqués à 100 p. 100.

En 1959, à la Grande Ferrade, nous avons réalisé des contaminations artificielles avec la souche isolée à Versailles. La technique consistait à introduire à la seringue entre les spathes et les grains une suspension de spores obtenue en broyant des tubes de culture pure (six tubes pour un litre). Nous avons opéré à la sortie des soies sur six hybrides doubles. INRA 244, INRA 258, INRA 353, W 355, Ia 4417, M 706. Ce mode de contamination était motivé d'une part par les conditions climatiques (sécheresse exceptionnelle) interdisant toute pulvérisation de matériel infectieux sur le feuillage, et d'autre part pour des questions de sécurité : nous ignorions la virulence exacte de la souche et les risques de propagation étaient moins grands en opérant de cette façon. Les épis les plus atteints étaient ceux de M 706, INRA 244 et INRA 258. Venaient ensuite Ia 4417 et W 355 dont quelques grains seulement présen-

taient des symptômes caractéristiques. Quant à INRA 353, nous n'avons rien observé.

Hybrides commerciaux.	Lignées entrant dans la constitution des Hybrides commerciaux. (1)	Notes de sensibilité des lignées à <i>Helminthosporium</i> (souche Versailles)-
INRA 200, INRA 258V 202	V 7	6
INRA 258, V 202.....	EP 1	2
INRA 244	FC 22	4
INRA 353	FM 47	1
INRA 321	FM 49	1
INRA 321	FM 431	1
INRA 353	FS 39	1
INRA 640	FS 64	0
INRA 640	FS 68	3
INRA 258	FV 115	0
V 202	FV 165	3
W 464	WR 3	1
INRA 258, V 202.....	W 33	3
M 706	A 188	1
W 464, Ia 4 417	Ia 153	0
Ia 4 417	WF 9	1
Ia 4 417, INRA 640.....	M 14	1
W 464, W 416	A 374	1
INRA 353	A 312	1
INRA 321	A 434	1
INRA 353	Imp 91	1

(1). — Les lignées VI, V 5, V 9, L 77, WJ, et AK 9 non représentées dans ce tableau (car plus ou moins délaissées dans la pratique) offrent le maximum de sensibilité.

En dehors d'un nombre assez restreint de lignées d'origine française (VI, V5, V7, V9, L 77, FC 22, FV 165, FS 68) et étrangère (WJ, AK9, W33), il semble que la souche d'*Helminthosporium* isolée à Versailles ne présente pas un caractère de haute gravité sur le matériel de sélection.

En ce qui concerne les hybrides commerciaux, nous n'avons rien observé à Versailles en 1958, malgré le voisinage immédiat de parcelles atteintes. Aussi avons-nous été amenés à pratiquer des contaminations artificielles sur épis en 1959, pour pouvoir préciser leur comportement. Là encore, le parasite se révèle très peu virulent. Il ne mérite guère d'être mentionné que sur INRA 244, INRA 258 et M 706. Il se pourrait que W 255 et INRA 200 renfermant dans leur patrimoine héréditaire des lignées particulièrement sensibles (V2, V7, WJ) soient dans le même cas, mais nous ne pouvons l'affirmer.

Les Américains qui ne connaissent que les races 1 et 2 d'*Helminthosporium carbonum* signalent comme sensibles deux lignées du M 706 : A 34 et A 188.

III. — CONCLUSIONS.

En dépit de son caractère spectaculaire, ce nouveau parasite n'est pas aussi grave qu'on aurait pu le croire au début. Afin d'éviter son retour, il y a lieu de prendre plusieurs précautions élémentaires :

1° — Veiller à l'état sanitaire des semences et éviter dans toute la mesure du possible d'utiliser des grains provenant d'épis malades. Ce n'est peut-être pas la source principale d'infection, mais ce point mérite notre attention.

2° — Eliminer les lignées trop sensibles. L'agent pathogène semble présenter sur maïs une spécificité qui est intermédiaire entre les races 1 et 2 d'*Helminthosporium carbonum* décrites par ULLSTRUP aux U. S. A. Presque toutes les lignées ont des taches, quelques-unes seulement se révèlent d'une extrême sensibilité.

3° — Les maïsiculteurs veilleront de près sur les hybrides doubles provenant de ces lignées sensibles, en particulier sur INRA 244, INRA 258, Minhybrid 706.

Reçu pour publication le 1^{er} septembre 1960.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) MOLOT P., 1960. Un nouvel *Helminthosporium* sur maïs dans le Bassin Parisien. *Ann. Epiph.*, 251-256.
 - (2) ULLSTRUP A. J., 1943. Further studies on a species of *Helminthosporium* parasitizing corn. *Phytopathology*, **34**, 214-222.
 - (3) ULLSTRUP A. J., 1952. Leaf blights of corn. *Purdue Univ., Stat.* 572.
-

LE PLOMB DES ARBRES FRUITIERS

II — TRAVAUX PRÉLIMINAIRES RÉALISÉS A LA STATION DE PATHOLOGIE VÉGÉTALE,
CENTRE DE RECHERCHES AGRONOMIQUES DU SUD-OUEST, PONT-DE-LA-MAYE.

C. GROSCLAUDE ⁽¹⁾

Avec la collaboration technique de X. de LATOUR.

PLAN DU MÉMOIRE

INTRODUCTION

INOCULATIONS ARTIFICIELLES RÉALISÉES EN VERGER

- A. — Contaminations avec *Stereum purpureum*
- B. — Contaminations avec diverses espèces de *Stereum*
- C. — Contaminations des différents organes de l'arbre
 - rameaux et pousses de l'année,
 - rameaux de deux ans, charpentières, troncs,
 - racines.
- D. — Contaminations de divers porte-greffes du pêcher,
- E. — Contaminations à dates échelonnées
- F. — Tests de sensibilité variétale
- G. — Contaminations mixtes *S. purpureum* et antagoniste

ESSAIS DE LUTTE CHIMIQUE

ÉTUDES SUR LE *Stereum purpureum* in vitro

- A. — Essais de fongicides
- B. — L'antagonisme *S. purpureum* — *Cytospora leucostoma*
- C. — Essais de nutrition du *S. purpureum*

CONCLUSIONS

RÉSUMÉ

INTRODUCTION

Dans une publication récente, nous avons retracé l'historique de la question du « plomb » des arbres fruitiers et nous avons examiné les causes assignées à cette maladie par les différents auteurs. Nous avons indiqué, qu'en France du moins, le plomb est dû à l'action parasitaire d'un champignon Basidiomycète le *Stereum purpureum* Pers. contre lequel aucune méthode de lutte ne donne encore de résultats satisfaisants.

Dans ce qui suit, nous exposons un certain nombre de travaux réalisés dernièrement à la Station de Pathologie Végétale du Sud-Ouest et situés sur des plans très différents. Poussés par l'urgence de la question, nous avons dû aborder simultanément des recherches d'ordre physiologique et des études plus pratiques sur les moyens de lutte contre le parasite.

INOCULATIONS ARTIFICIELLES RÉALISÉES EN VERGER

A. — CONTAMINATION AVEC *Stereum purpureum*

Il nous a été possible de réaliser en verger un certain nombre d'inoculations artificielles et seules des difficultés matérielles bien compréhensibles nous ont empêché de multiplier le nombre de sujets d'expérience, comme il aurait été souhaitable.

C'est cependant plusieurs dizaines d'arbres que nous avons pu inoculer avec succès : pêchers surtout, mais aussi abricotiers et pruniers. Nous voulions par là vérifier le pouvoir pathogène de diverses souches de *Stereum purpureum*, soit isolées à partir d'organes d'arbres atteints de plomb (branches troncs ou racines de pêcher), soit fournies par d'autres laboratoires ⁽¹⁾.

Nous avons toujours obtenu un nombre important d'inoculations positives reproduisant exactement les symptômes naturels de la maladie, en utilisant soit des fragments de carpophores, soit le mycélium en culture pure.

La technique très simple consiste, après une désinfection sommaire, à introduire l'inoculum sous une blessure faite au scalpel, au niveau du bois, dans le tronc ou les charpentières de l'arbre et à maintenir le tout par un ruban de toile adhésive.

Toutefois, ainsi que nous le verrons par la suite, l'époque à laquelle doit être réalisée l'infection n'est pas indifférente : nous opérons le plus souvent à la fin de l'automne ou en hiver.

B. — CONTAMINATIONS AVEC DIVERSES ESPÈCES DE *Stereum*

Des auteurs italiens, BORZINI et CERUTI-SCURTI, ont récemment attribué le plomb à un champignon différent du *S. purpureum*, le *Gleocystidium contiguum* Karst. f. *laxa* Bourdot et Galzin. Puisqu'il semblait donc que plusieurs organismes puissent reproduire les symptômes du plomb, il nous a paru intéressant de tester à cet égard d'autres espèces de *Stereum*. C'est ainsi que nous avons inoculé des pêchers avec les espèces suivantes ⁽²⁾ :

- S. hirsutum* (Willd.) Pers.
- S. frustulosum* Fr.
- S. sanguinolentum* (Alb. Sch.)
- S. spadiceum* (Pers.) Bre.
- S. gausapatum* Fr.
- S. insignitum* Quel.

(1) Nous avons ainsi testé la souche 609 communiquée par le Laboratoire de Cryptogamie du Muséum d'Histoire Naturelle de Paris et provenant du Forest Products Research Laboratory à Princes Risborough (Angleterre) et la souche 609 B isolée sur bouleau à Fontainebleau, communiquée par le Laboratoire de Mycologie du Centre Technique du bois de Paris.

(2) Il s'agissait respectivement des souches 594 A, 613 A, 599 A, 504, 600 A et 596 A de provenances diverses et aimablement communiquées par le Laboratoire de Mycologie du Centre Technique du Bois à Paris.

Ces espèces ne provoquèrent l'apparition d'aucun symptôme morbide à l'exception du *S. insignitum* qui dans deux cas sur cinq communiqua au feuillage des arbres une légère teinte plombée du côté correspondant à l'inoculation. Reprenant cet essai avec des variétés plus sensibles, nous avons provoqué le plomb par l'inoculation du *S. insignitum* sur quatre arbres dont deux moururent par la suite.

On peut donc penser que cette espèce est capable de provoquer la maladie au même titre que le *S. purpureum*, mais il resterait à vérifier le rôle exact du *S. insignitum* — que nous n'avons jamais isolé — dans les infections naturelles.

C. — CONTAMINATIONS DES DIFFÉRENTS ORGANES DE L'ARBRE

On sait de longue date que la maladie du plomb s'extériorise au niveau des feuilles et des jeunes rameaux ; par contre, le mycélium du parasite est localisé dans le tronc, les grosses branches ou parfois les racines de l'arbre.

Il était donc intéressant de vérifier expérimentalement si seules les blessures de ces organes ligneux déjà volumineux étaient susceptibles de servir de voie d'entrée au champignon. A cet effet, nous avons inoculé le *Stereum purpureum* au niveau des organes suivants :

- rameaux et pousses de l'année,
- rameaux de deux ans,
- charpentières,
- tronc,
- racines.

Rameaux et pousses de l'année

Premier essai : cicatrices foliaires. — Sur cinq pêchers de variétés diverses, nous avons effectué plus de 50 contaminations au niveau de cicatrices foliaires récentes. L'essai fut réalisé au début du mois de novembre, un peu avant la chute complète des feuilles.

La technique consistait à déposer l'inoculum sur les cicatrices et à recouvrir le tout par un pansement de coton humide que maintenait du papier d'aluminium. Sur 50 inoculations, deux seulement aboutirent à la mort du bourgeon axillaire et à la formation d'une petite zone déprimée de couleur sombre.

Aucun symptôme de plomb n'apparut au cours de la saison suivante sur tous les rameaux qui demeurèrent parfaitement sains.

Deuxième essai : rameaux de l'année. — Dans cet essai, l'inoculation eut lieu à la fin du mois de novembre sur des rameaux blessés au scalpel à 20 ou 30 cm de leur extrémité, ou encore sectionnés à ce niveau au moyen d'un sécateur. Cinquante cinq inoculations furent réalisées de la sorte au cours de plusieurs expériences. Les résultats furent les suivants :

— Lorsque l'extrémité a été sectionnée, l'infection de la plaie de taille conduit à un dessèchement du rameau sur 8 à 25 cm. La partie morte est rapidement colonisée par le *Cytospora leucostoma* (chez les témoins, par contre, le moignon mort dépasse rarement 1 cm). En aucun cas, le feuillage issu de la partie du rameau demeurée saine n'a présenté d'aspect plombé.

— Lorsque l'inoculation a été faite par blessure à 20 ou 30 cm de l'extrémité, on obtient au bout d'un certain temps la formation d'un chancre qui évolue soit vers

la cicatrisation, soit au contraire vers la mort de la partie distale du rameau. Cependant, dans deux cas nous avons remarqué le plombage du feuillage.

Troisième essai : pousses de l'année. — Les contaminations ont été ici effectuées par blessure sur les jeunes pousses herbacées, à partir du 30 avril et jusqu'au début de l'été. Rapidement autour du point d'inoculation les tissus prennent une teinte nécrotique brun foncé, puis la pousse, si elle est très jeune, flétrit ou même se casse sous l'action du vent par suite d'une diminution de la résistance des tissus au voisinage de la blessure.

Sur les témoins la blessure, par contre, se cicatrise rapidement. Sur les pousses plus âgées on observe seulement la nécrose, mais la cicatrisation finit par se produire.

Nulle part l'aspect plombé n'a été observé, sauf dans un cas.

Ces essais tendent donc à prouver que la contamination de jeunes rameaux est très difficile, sinon irréalisable. Les cicatrices foliaires et les petites blessures de taille ne joueraient donc pas un rôle appréciable dans la dissémination de la maladie.

Rameaux de deux ans, charpentières, troncs

Toutes nos infections nous ont donné des résultats régulièrement positifs, c'est-à-dire l'apparition d'abord unilatérale de l'aspect plomb se généralisant par la suite à une plus ou moins grande partie du feuillage.

Racines

Dans une première expérience nous avons réalisé, mais sans succès, des contaminations de racines suivant la même technique que celle exposée plus haut pour les troncs ou les charpentières.

Ces essais furent repris l'année suivante au début de décembre en procédant de diverses façons.

1^o) On inocule par blessure une racine de la grosseur de l'index sans aucune désinfection préalable (lot RA).

2^o) La contamination est réalisée comme précédemment, mais en prenant le maximum de précautions d'asepsie (lot RAD).

3^o) On injecte au pal dans le sol au pied des arbres une suspension de mycélium provenant d'un broyat de cultures pures (lot SC).

4^o) On dégage le pied des arbres (âgés de 2 ans) jusqu'à 25 cm de profondeur et sur 50 cm de rayon on répand alors un inoculum constitué par des fragments de bois de pêcher ayant servi de substrat pour la culture du *Stereum purpureum* (lot SB).

Les résultats sont résumés dans le tableau ci-après :

Lot	Nombre d'arbres inoculés	Inoculations positives
RA	4	Quelques feuilles légèrement plombées sur un arbre
RAD	4	3 arbres très fortement plombés 1 arbre peu plombé
SC	8	1 arbre légèrement plombé
SB	8	7 arbres plus ou moins fortement touchés

La désinfection préalable à une contamination de blessure de racine accroît donc notablement les possibilités d'infection. Les méthodes d'asepsie permettent en

effet d'éliminer des organismes probablement nombreux dans le sol, capables de jouer un rôle antagoniste vis-à-vis du *Stereum purpureum*. Par contre, un apport massif d'inoculum dans le sol (lot SB) permet quand même l'établissement de l'infection.

On peut donc conclure de ces expériences que dans la nature les contaminations au niveau des racines sont possibles, la source d'inoculum étant constituée par exemple par des débris ligneux d'un arbre malade du plomb et précédemment arraché.

D. — CONTAMINATIONS DE DIVERS PORTE-GREFFES DE PÊCHER

En liaison avec la Station d'Amélioration des Plantes, des inoculations artificielles ont été réalisées sur différentes espèces de *Prunus* (*P. persica*, *P. armeniaca*, *P. cerasifera*, etc...) susceptibles de convenir comme porte-greffes pour les variétés de pêcheurs.

Le but de cet essai était d'évaluer la sensibilité de ces divers porte-greffes au *Stereum purpureum*.

Si cette expérimentation ne nous a pas encore permis de trouver des types résistant au champignon, par contre, elle nous a donné l'occasion d'une intéressante observation quant aux symptômes de la maladie.

Sur des arbres inoculés à la partie supérieure du tronc à la fin du mois de novembre, la maladie se traduisit dès le printemps suivant de diverses façons. En effet, tandis que sur pêcheurs l'aspect plombé se manifesta sur les jeunes feuilles dès le départ de la végétation, chez d'autres espèces (notamment un semis d'abricotier sauvage et un prunier Myrobolan) toute la partie située au-dessus de l'inoculation mourut avant même l'entrée en végétation.

La partie inférieure, tronc, et racines, mourut à son tour mais on observa, au moins chez l'abricotier, une émission de rejets dont les feuilles avaient la teinte plombée caractéristique.

Ainsi donc, certains arbres peuvent à la suite d'une attaque par le *S. purpureum* mourir sans avoir présenté de symptômes de plomb. L'aspect plombé lorsqu'il apparaît dénote déjà une résistance du sujet à l'invasion parasitaire.

Ceci permettrait d'expliquer parfois des mortalités ou des non-reprises survenant peu après la plantation.

E. — CONTAMINATIONS A DATES ÉCHELONNÉES

BROOKS, dans le cas du prunier, avait déjà remarqué que l'infection des blessures par le *S. purpureum* n'était pas possible durant les mois d'été. GROSJEAN avait également remarqué une périodicité dans l'activité parasitaire du champignon. Nous avons voulu vérifier ceci chez le pêcher et dans ce but nous avons procédé à des inoculations échelonnées depuis le 30 avril jusqu'au 13 juillet.

Ne disposant pas de matériel végétal suffisant, ces contaminations n'ont pu porter que sur un nombre assez limité de sujets : de ce fait nous ne pourrions pas être formel dans nos conclusions. Cependant, les quelques résultats obtenus semblent confirmer ceux de BROOKS : la contamination par le *S. purpureum* donnerait rarement un résultat positif à partir du mois de juin, l'hiver et le printemps étant au contraire plus favorables à la réalisation de l'infection.

Se basant sur ces considérations, on peut donc, comme l'ont préconisé certains

auteurs et notamment BROOKS, limiter l'extension de la maladie en réalisant en été la taille annuelle des arbres.

F. — TESTS DE SENSIBILITÉ VARIÉTALE

Plusieurs séries d'inoculations artificielles en verger nous ont permis de distinguer des différences de sensibilité dans les variétés de pêcher.

Par ailleurs, certaines de nos conclusions ont pu trouver une confirmation dans les résultats d'une enquête effectuée auprès d'une cinquantaine d'arboriculteurs chez qui le plomb avait été observé.

Parmi les variétés sensibles, nous citerons : Arp Beauty, Dugelay, Dixigem, Fairhaven, Ribet, Dixired, May Flower.

D'autres variétés semblent, par contre moins sensibles : ce sont en premier lieu Southland, puis Early Elberta, Triogem, Amsden et J. H. Hale.

G. — CONTAMINATIONS MIXTES *S. purpureum* ET ANTAGONISTE

Les arbres fruitiers qui sont soumis régulièrement à la pratique de la taille présentent de ce fait un nombre important de plaies. Ces plaies auxquelles viennent s'ajouter les blessures accidentelles de toutes sortes (intempéries, etc...) sont rarement recouvertes en temps utile par une peinture ou un mastic qui en assurerait la protection et la désinfection. Elles sont donc rapidement envahies par les organismes les plus divers, saprophytes ou parasites.

Si pratiquement la grande majorité des arbres n'est pas affectée par un tel état de choses, cela est dû vraisemblablement en partie au pouvoir antagoniste de certaines espèces vis-à-vis d'autres à aptitudes pathogènes.

Or, le *S. purpureum* est précisément un exemple de parasite susceptible de pénétrer par des blessures fraîches. Dans les blessures plus âgées — et de ce fait ne pouvant servir de porte d'entrée au champignon — nous avons isolé fréquemment le *Cytospora leucostoma*. Or, *in vitro*, cette espèce présente un net pouvoir antagoniste vis-à-vis du *S. purpureum*, ainsi que nous l'avons montré dans un travail récent (*cf. infra* IV, B).

Nous avons voulu vérifier si cet antagonisme existait également dans la nature en réalisant des contaminations mixtes *S. purpureum* — *C. leucostoma*. Dans notre expérience nous avons inoculé le *S. purpureum* sur le tronc de jeunes pêchers, soit au même endroit que le *C. leucostoma*, soit entre deux blessures infectées par ce dernier champignon et distantes de 20 cm environ. Le *S. purpureum* était inoculé trois semaines après le *Cytospora*.

Seul, sur des arbres bien portants, le *C. leucostoma* ne donne lieu à aucun symptôme morbide ; si on l'inocule simultanément avec le *S. purpureum* on obtient, par contre, l'apparition d'un plomb typique. Mais si l'antagoniste est inoculé quelque temps avant le parasite, le plomb n'apparaît plus dans la majorité des cas.

Ces résultats sont à rapprocher des travaux de KRSTIC selon lesquels des châtaigniers préalablement inoculés par certains organismes saprophytes (*Penicillium*, *Bacillus subtilis*) présenteraient un taux d'infection naturelle à l'*Endothia parasitica* inférieur à celui de témoins non inoculés.

Nous ne pensons pas que la protection des arbres fruitiers vis-à-vis du plomb puisse pratiquement être obtenue par l'apport artificiel d'un antagoniste. Cependant,

ce qui précède permet de comprendre pourquoi dans la nature les multiples plaies et blessures de toutes sortes qui existent sur les arbres non soignés ne servent que rarement de voie d'entrée au parasite.

De même, à la lumière de ceci, on peut se demander si la réalisation de trop fréquentes pulvérisations fongicides dans les vergers ne contribue pas à éliminer les saprophytes existants sur les arbres au profit du *S. purpureum* dont les spores contaminatrices proviennent le plus souvent de localités différentes ou de supports autres que des arbres fruitiers.

ESSAIS DE LUTTE CHIMIQUE

Nos essais dans ce sens ont toujours été très décevants et n'ont donné aucun résultat évident. Nous les mentionnerons cependant ici à titre indicatif.

Les divers traitements furent appliqués à des arbres atteints de plomb à la suite d'infections soit naturelles, soit artificielles.

Nous avons opéré :

- par injection de produits liquides ou en solution aqueuse dans les troncs ;
- par introduction de produits solides dans les branches ou le tronc ;
- par désinfection du sol dans la zone exploitée par les racines lorsque nous pensions que l'attaque par le *Stereum purpureum* intéressait en premier lieu ces organes ;

— par pulvérisations foliaires.

Les produits employés étaient :

- des fongicides : sulfate d'orthoxyquinoléine ou dithiocarbamates (en injection ou introduction dans les troncs), le silicate de méthoxyéthylmercure ou le pentachloronitrobenzène (en désinfection du sol, appliqués au pal ou à la barre à mine).

— des antibiotiques : mycostatine en injection.

— diverses substances de croissance : acides indole-acétique, indole-butyrique, naphthalénacétique, 2-4 dichlorophénoxyacétique, hydrazide maléique, gibberelline, kinetine. On sait en effet que l'aspect plombé des feuilles est dû au décollement de certains tissus des feuilles à la suite de l'arrêt de la multiplication cellulaire dans les jeunes parenchymes. Par ailleurs, un symptôme typique de la maladie chez le pêcher est précisément la croissance fortement diminuée des jeunes pousses conduisant à l'aspect en rosette. On pouvait donc légitimement espérer corriger ces symptômes par des pulvérisations foliaires de substances de croissance. Cependant, des pulvérisations hebdomadaires à partir du débourrement ne nous ont jamais donné que des résultats contradictoires.

— un chélate de fer, en injection ou en pulvérisation foliaire. En effet, la juxtaposition fréquente dans un même verger d'arbres plombés et d'arbres chlorosés pouvait faire supposer que la maladie était favorisée par un défaut d'absorption du fer.

Malgré les résultats négatifs obtenus, il semble cependant que l'on puisse retenir le sulfate d'orthoxyquinoléine comme étant un produit intéressant. L'action de celui-ci vis-à-vis du plomb avait déjà été signalée par GROSJEAN. Ce produit qui présente l'avantage d'une grande solubilité dans l'eau n'est pas toxique pour la plante et possède, en outre, un important pouvoir fongicide vis-à-vis du *S. purpureum* (cf. *infra* IV, A).

Récemment, PRATELLA a mis en évidence son action systémique chez le pêcher.

A. — ESSAIS DE FONGICIDES

Techniques

Les essais ont été réalisés dans des tubes à essais contenant 9 ml de milieu au malt-agar (15 p. 1000 — 20 p. 1000). Un ml de la solution ou de la suspension de fongicide est incorporé après autoclavage dans le milieu lorsque celui-ci est à la température de 45°C environ. L'incubation est réalisée à 23°C à l'obscurité pendant 6 jours.

L'efficacité est notée en observant la croissance linéaire entre le deuxième et le sixième jour de culture.

Cette technique simple donne cependant des résultats suffisamment précis.

Produits essayés et résultats

- oxyquinoléine : aucune croissance à partir de 10 ppm,
à 1 ppm, la croissance n'est encore qu'à 40 p. 100 de celle du témoin ; l'oxyquinolate de cuivre semble donner des résultats encore meilleurs.
- mycostatine ⁽¹⁾ : aucune croissance à 100 ppm,
à 10 ppm, croissance faible (20 p. 100 du témoin).
- zirame à 100 ppm croissance très faible (2 à 6 p. 100 du témoin).
- arsénite de sodium : à 100 ppm croissance moyenne (32 p. 100 du témoin).
- sulfate de cuivre : à 100 ppm ce produit ne paraît pas gêner la croissance du champignon qui n'est inhibé qu'à la dose de 1000 ppm (aucune croissance).

Des doses plus faibles que 100 ppm paraîtraient avoir un léger effet stimulant sur la croissance.

Enfin, signalons que nous avons pu mettre en évidence l'action par volatilité du silicate de méthoxyéthylmercure dont les vapeurs *in vitro* inhibent totalement la croissance du *S. purpureum*.

La Quinoléine et ses dérivés se sont donc montrés les produits les plus efficaces. C'est donc à eux que l'on aura recours si l'on désire appliquer des produits lors d'expérimentations en verger.

Le silicate de méthoxyéthylmercure tout en étant très efficace ne peut s'employer qu'en désinfection du sol — ce qui peut n'être ni suffisant, ni nécessaire. Par ailleurs, du fait de sa toxicité, son emploi peut être assez délicat dans la pratique.

B. — L'ANTAGONISME *S. purpureum* — *Cytospora leucostoma*

Nous ne rappellerons que brièvement les résultats de ce travail déjà publié par ailleurs et auquel il a été fait allusion plus haut.

Nous cultivions les deux organismes ensemble ou séparément dans des fioles d'Erlenmeyer contenant un milieu nutritif liquide. Après une vingtaine de jours, on récoltait les mycéliums qui étaient séchés, puis pesés.

Dans une expérience, le résultat fut le suivant (exprimé en mg de mycélium sec).

<i>S. purpureum</i> seul	78
<i>C. leucostoma</i> seul	198
<i>S. purpureum</i> en culture mixte	8

(1) Ce produit nous a été aimablement fourni par les Laboratoires SQUIBB et titrait 2.500.000 unités par gramme.

La croissance du mycélium du parasite a donc été dans la culture mixte réduite de 90 p. 100. L'inhibition étant réciproque, la croissance du *Cytospora* était également notablement plus faible que lorsque le champignon se trouvait seul.

En outre, divers tests biologiques nous ont montré que les filtrats de culture mixte s'avéraient très toxiques, non seulement pour les deux organismes en cause, mais aussi pour d'autres champignons.

C. — ESSAIS DE NUTRITION DU *S. purpureum*

Nous avons réalisé un certain nombre d'essais pour étudier l'importance — au point de vue qualitatif surtout — de diverses sources d'azote et de carbone dans la nutrition du champignon.

L'azote

Des expériences préliminaires nous ont montré que le *S. purpureum* ne pouvait pas utiliser comme source d'azote exclusive les nitrates. La bonne croissance que nous observions dans des milieux contenant 2 g./l. de nitrate de sodium était due en réalité à l'adjonction au liquide nutritif d'une quantité importante d'extrait de malt (Maltea Moser à 5 p. 1000) agissant moins comme apport de vitamines que comme source d'acides aminés.

Dans un travail récent, CLOSE a étudié par chromatographie les aminoacides libres de quelques champignons et notamment du *S. purpureum*. Quatorze aminoacides ont pu ainsi être mis en évidence et identifiés.

Dans ses conclusions, cet auteur remarque que l'acide γ -aminobutyrique est présent dans tous les champignons testés, sauf dans le *S. purpureum*. Ce fait est d'autant plus remarquable qu'il s'agit là d'un aminoacide très répandu dans le règne végétal.

C'est pourquoi nous avons entrepris de vérifier si cette substance était utilisable par le *S. purpureum* comme source d'azote, au même titre que d'autres aminoacides.

Nous avons pour cela cultivé le champignon dans un milieu liquide composé comme suit :

Saccharose	20 g/l.
Phosphate monopotassique.....	1 g/l.
Chlorure de potassium	0,5 g/l.
Sulfate de magnésium.....	0,5 g/l.
Chlorhydrate de thiamine.....	0,006 g/l.
Solution d'oligoéléments (Zn, Cu, Fe, Mn, Mo)	2 ml.

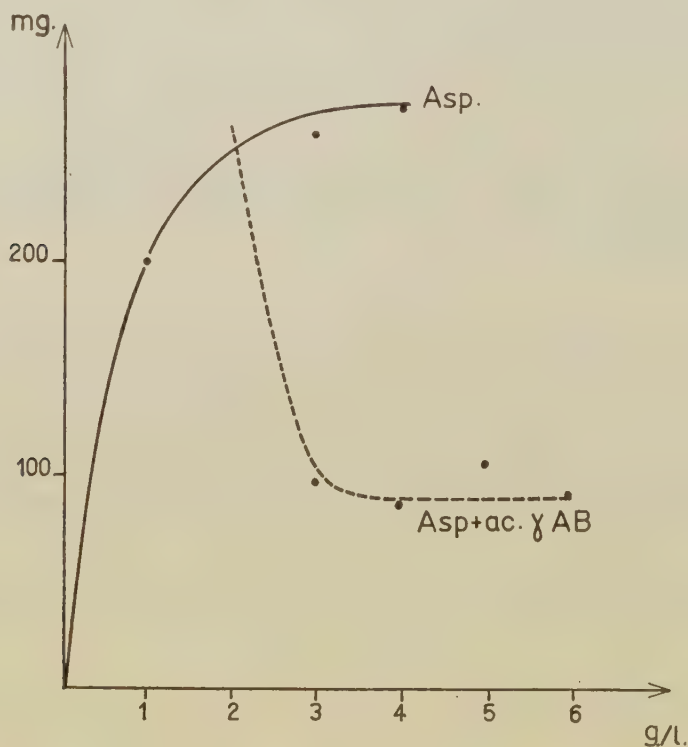
auquel était ajoutée la source d'azote constituée suivant les expériences par des aminoacides à la dose équivalente de 2 ou 1 g./l. de nitrate de sodium. Dans ce dernier cas, le milieu contenait alors en plus 1 g./l. de $\text{NO}_3 \text{Na}$.

Nous avons testé ainsi : d-l-alanine, l-arginine, l-asparagine, acide l-aspartique, acide l-glutamique, glycolcolle, proline, acide γ -aminobutyrique, ainsi qu'un hydrolysats de caséine (Difco).

Les résultats dont nous ne donnons pas ici tout le détail font apparaître que l'asparagine à 1,552 g./l. constitue une excellente source d'azote, supérieure parfois à l'hydrolysats de caséine.

L'acide γ aminobutyrique convient mal à la croissance du champignon bien que

n'empêchant pas la formation d'ébauches de fructifications. Son adjonction à l'asparagine a en outre pour effet de faire baisser brusquement le poids de la récolte de mycélium (voir graphique n° 1).



GRAPHIQUE n° 1.

En abscisses : dose totale d'azote dans le milieu exprimée en grammes par litre de NO_3Na .

En ordonnées : poids sec de mycélium récolté, en milligrammes.

Courbe en trait plein : milieu contenant seulement de l'asparagine comme source d'azote.

Courbe en trait discontinu : milieu contenant de l'asparagine (à la dose équivalente à 2 g./l. de nitrate de sodium) et de l'acide γ -aminobutyrique à diverses doses.

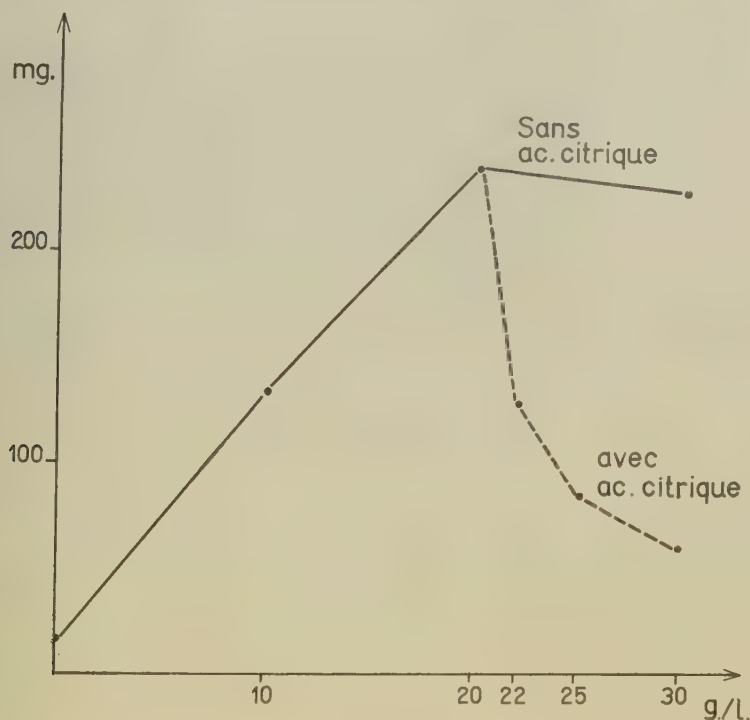
Enfin, le glyocolle et la proline — qui d'après CLOSE n'existe pas non plus à l'état libre dans le mycélium — sont encore moins bien utilisés (tableau n° 1).

TABLÉAU I

Source d'azote + 1 g. de nitrate de sodium	Poids de récolte de mycélium sec
Hydrolysats de caséine.....	302 mg
Asparagine.....	284 —
Acide glutamique.....	230 —
Acide γ -aminobutyrique.....	108 —
Glyocolle.....	89 —
Proline.....	22 —

Le carbone

Nos essais encore très incomplets dans cette voie ont porté sur la substitution possible dans les milieux de culture du sucre par divers acides organiques. Nous avons choisi pour cela les acides quinique, malique et citrique qui sont d'après SCHNEIDER les trois acides les plus importants chez le pêcher.



GRAPHIQUE n°2.

En abscisses : dose totale de carbone dans le milieu exprimée en grammes par litre de saccharose.

En ordonnées : poids sec de mycélium récolté en milligrammes.

Courbe en trait plein : milieu contenant comme source de carbone un mélange de saccharose, acides malique et quinique.

Courbe en trait discontinu : milieu contenant saccharose, acides malique et quinique (à la dose équivalente de de 20 g.l. de saccharose au total) et en plus de l'acide citrique à diverses doses.

Nous avons pu ainsi remarquer que si le remplacement total du saccharose (utilisé à 20 g./l.) par une quantité équivalente d'un des trois acides organiques (suivi d'un ajustement du pH) ne permet qu'une croissance très faible — ou même nulle avec l'acide citrique ; par contre, la combinaison saccharose-acide malique-acide quinique en proportions égales donnait un résultat supérieur au saccharose seul. En outre, l'adjonction d'acide citrique conduit à une diminution rapide du poids de mycélium récolté (voir graphique n° 2).

CONCLUSIONS

Tous les travaux qui précèdent, s'ils n'apportent pas encore une solution pratique au problème du plomb, étaient cependant nécessaires pour une meilleure connaissance de la maladie.

Dans le domaine de la lutte contre la maladie, on ne peut donc conseiller autre chose que les mesures préventives d'ordre prophylactique déjà connues :

- désinfection immédiate des plaies de taille avec une peinture fongicide ;
- réalisation de la taille en juin lorsque cela est possible agronomiquement ;
- élimination totale de tous les bois morts et malades dans le verger et sa proximité immédiate, cette mesure visant à éviter la formation de fructifications qui se produit généralement en automne ou en hiver ;

- enfin, on veillera à réaliser des conditions culturales favorables aux arbres que l'on veut protéger. Cet aspect de la question déjà signalé par BROOKS, puis d'autres, revêt à notre avis une importance primordiale. Le *S. purpureum* est en effet un champignon à aptitudes plus saprophytiques que parasitaires. Les nombreuses guérisons spontanées que l'on peut observer dans la nature en sont une preuve supplémentaire. Il est donc évident que la maladie causera ses dommages surtout dans les plantations où les arbres se trouvent en mauvaises conditions physiologiques, par suite de techniques culturales défectueuses.

Cet aspect de la question fera par la suite l'objet de nos travaux.

Reçu pour publication le 7 octobre 1960

RÉSUMÉ

- Par de nombreuses inoculations artificielles, nous avons pu vérifier le pouvoir pathogène du *Stereum purpureum* en reproduisant la maladie du plomb.

- Le *S. insignitum* en inoculation artificielle peut aussi produire chez le pêcher l'aspect plombé.

- Le *S. purpureum* pénètre par les blessures des organes ligneux des arbres : troncs, charpentières ou grosses branches. Les blessures accidentelles ou naturelles produites par l'abscission des feuilles au niveau des jeunes rameaux ne peuvent pas en règle générale servir de voie d'accès au parasite. Enfin, l'invasion de l'arbre par les racines a pu être réalisée expérimentalement.

- Sur des *Prunus* servant de porte-greffes au pêcher, nous avons pu observer la mort des arbres inoculés avant toute apparition du symptôme plomb.

- Il semble que l'infection par le *S. purpureum* ne puisse se réaliser chez le pêcher pendant les mois d'été, ainsi que cela avait été démontré pour le prunier.

- Il existe un antagonisme très net *in vitro* entre le *S. purpureum* et le *Cytospora leucostoma*. L'inoculation préalable de cette dernière espèce nous a permis expérimentalement d'éviter l'apparition du plomb chez des arbres contaminés par le *S. purpureum*.

- De nombreux essais de traitement chimiques n'ont donné aucun résultat positif. Cependant, le sulfate d'oxyquinoléine déjà préconisé à l'étranger peut présenter un certain intérêt du fait de son pouvoir fongicide important vis-à-vis du *S. purpureum*.

- Certains facteurs de la nutrition *in vitro* du *S. purpureum* ont été étudiés.

SUMMARY

By numerous artificial inoculations on stone fruit-trees, the pathogenicity of the fungus *Stereum purpureum* has been confirmed.

S. insignitum also has artificially induced the silvering of foliage in peach trees.

Infection by *S. purpureum* may be obtained through wounds of ligneous organs : trunks or branches. However, it was not possible to infect the current season's shoots through artificial or natural wounds (leaf scars).

Artificial inoculations have demonstrated the possibility of roots infection.

On some *Prunus* (rootstocks of peach varieties) inoculated in november, the death may occur during winter and consequently the silvering of the foliage does not appear.

It seems that, on peach trees (as on plum trees), the infections are not possible during summer

Arp Beauty is the one of the most susceptible varieties ; Southland and Ealry Elberta are less susceptible.

Antagonism *in vitro* between *S. purpureum* and *Cytospora leucostoma* has been studied.

In orchard, artificial inoculations by *C. leucostoma* have prevented the disease on trees infected by *S. purpureum* afterwards.

Numerous experiments of chemical control have been unsuccessful. However oxychinoline-sulphate has some interest on account of its high toxicity to the fungus.

Some aspects of the nutrition of *S. purpureum* have been studied.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BORZINI G., CERUTI SCURTI J., 1957. Attachi di Basidiomiceti e manifestazioni di « mal del piombo » nelle Prunoidee. Nota I. — Scopo delle ricerche e rassegna bibliografica. *Boll. Lab. Sper. Osserv. Fitopat., Torino*, **20**, 43-58.
- BROOKS F. T., MOORE W. C., 1926. Silver leaf disease. *V. J. Pomol.*, **5**, 61-97.
- CERUTI SCURTI J., 1958. Attachi di Basidiomiceti e manifestazioni di « mal del piombo » nelle Prunoidee. Nota II. — Generalità sulla malattia nella sua diffusione nel Saluzzese e caratteri dei Basidiomiceti isolati delle piante colpite. *Boll. Lab. Sper. Osserv. Fitopat. Torino*, **21**, 19-39.
- CLOSE R., 1960. Free amino-acids of some fungi. *Nature*, **185**, 609-610.
- GROSCLAUDE C., 1960. Le plomb des arbres fruitiers. I. État actuel de la question. *Ann. Epiph.*, **3**, 395-415.
- GROSCLAUDE C., 1960. Sur le rôle antagoniste de *Cytospora leucostoma*. L'antagonisme *C. leucostoma*. *Stereum purpureum in vitro*. *Bull. Soc. Mycol. France*, **76**, 163-170.
- GROSJEAN J., 1955. Jaarlijkse periodiciteit in de parasitaire activiteit van *Stereum purpureum*. *Tijdschr. Pl. Ziekt.*, **62**, 226-235.
- GROSJEAN J., 1951. Onderzoekingen over de mogelijkheid van een bestrijding van de loodglansziekte volgens de boorgat methode. *Tijdschr. Pl. Ziekt.*, **57**, 103-108.
- KRSTIC M., HOCEVAR S., 1959. The role of some microorganisms in the prevention of chesnut infection by *Endothia parasitica*. *Plant Protection Beograd*, **54**, 41-52.
- PRATELLA G., KOVACS A., 1960. Attività sistemica del solfato di 8-ossichinolina in giovani piante di pesco. *Ann. Sper. Agrar.*, **14**, 171-183.
- SCHNEIDER A., 1958. Les variations annuelles des acides organiques du pêcher. *C. R. Acad. Sci.*, **246**, 2029-2032.
- TETLEY U., 1932. The development and cytology of the leaves of healthy and « silvered » Victoria plum-trees. *Ann. Bot.*, **46**, 633-652.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU COMPORTEMENT DES VIRUS DES VÉGÉTAUX CHEZ LEURS HOTES HYPERSENSIBLES

C. GRISON et C. MARTIN.

Station centrale de Pathologie végétale, Centre national de Recherches agronomiques, Versailles.

INTRODUCTION

L'étude de la multiplication des virus des végétaux chez leurs hôtes hypersensibles a déjà fait l'objet d'un certain nombre de travaux. Dans leur très grande majorité, les essais ont porté sur le *Nicotiana glutinosa* inoculé par le virus de la Mosaïque du Tabac. C'est d'autre part, l'étude des divers facteurs influençant le nombre de lésions locales obtenues avec un inoculum donné qui a surtout retenu l'attention des chercheurs. Il existe en effet de très nombreux travaux montrant l'influence de la température, de la lumière, de l'humidité, de la nutrition, de l'âge de la plante, sur la production de lésions locales. On peut d'ailleurs dire que l'on connaît maintenant les conditions optima permettant d'obtenir le maximum de lésions locales par inoculation du virus de la Mosaïque du Tabac au *Nicotiana glutinosa*. Mais on ne sait malheureusement pas pourquoi tel *N. glutinosa*, placé dans telles conditions, présente 1 ou 2 ou 3 fois plus de lésions locales que tel autre placé dans d'autres conditions. Aucun travail de nature physiologique ou biochimique n'est venu étayer les résultats de ces essais ; de nombreuses hypothèses ont certes été émises, mais aucune n'a fait l'objet de la moindre vérification. C'est en voulant aborder ce problème que nous avons fait quelques observations qui méritent d'être signalées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier la multiplication du virus chez le *Nicotiana glutinosa* en obligeant le virus à se généraliser dans cet hôte. Il suffit pour cela d'introduire le virus dans le « système circulatoire » du *Nicotiana glutinosa* par l'intermédiaire de la greffe. On choisit donc des *Nicotiana tabacum*, var. Samson, ayant de 6 à 7 feuilles ; on les décapite et on greffe en fente un sommet de *N. glutinosa* possédant 3 à 4 feuilles. La reprise de greffons aussi importants étant parfois difficile (la surface d'évaporation que représentent les feuilles du greffon étant très grande), il est nécessaire de placer les plantes dans une enceinte humide tant que la soudure des tissus des deux hôtes n'est pas réalisée. Lorsque cette soudure est réalisée, on place de nouveau les plantes dans une serre normale et après quelques jours de développement dans ces conditions, on inocule mécaniquement par frottement le virus de la Mosaïque du Tabac à l'une des feuilles du *N. tabacum*.

L'observation du développement de la maladie chez l'hôte hypersensible montre que le virus s'installe et se multiplie de la même façon que chez un hôte sensible ; en effet, dans la majeure partie des cas, mais d'une façon non absolue comme nous allons le voir plus loin, ce sont d'abord les jeunes feuilles du sommet qui présentent des symptômes ; il y a d'abord apparition de lésions nécro-



FIG. 1. — Plante-témoin, non inoculée.

tiques sur ces feuilles ; la nécrose s'étend ensuite à l'ensemble du sommet de la plante, puis descend et affecte successivement les feuilles de plus en plus âgées ; après un délai plus ou moins long, l'ensemble du greffon est nécrosé et il ne reste plus une seule cellule de l'hôte hypersensible à l'état vivant.

RÉSULTATS

Une première série de greffes fut réalisée de cette façon en 1958 ; 15 *Nicotiana tabacum*, possédant chacun un greffon de *N. glutinosa* bien soudé, furent inoculés avec le virus de la Mosaïque du Tabac. Sur les 15 greffons de *N. glutinosa*, 6 montrèrent 7 à 8 jours après l'inoculation les symptômes caractéristiques des hôtes hypersensibles greffés sur hôtes sensibles et malades ; 3 présentèrent ces symptômes 15 jours après l'inoculation ; 2 ne présentèrent que quelques lésions nécrotiques, puis se développèrent normalement et enfin 4 ne présentèrent aucun symptôme. (Les plantes restées vivantes furent conservées jusqu'à la floraison et la fructification).

Tous les *N. tabacum* présentèrent des repousses manifestant les symptômes classiques de la Mosaïque du Tabac : la présence du virus fut, de plus, vérifiée sérologiquement.

Cette diversité de réactions du *N. glutinosa* était étonnante : elle était d'autre part extrêmement gênante pour le genre d'études auxquelles ces plantes étaient destinées.



FIG. 2. — Début d'apparition de la maladie chez une plante inoculée (nécrose du sommet).

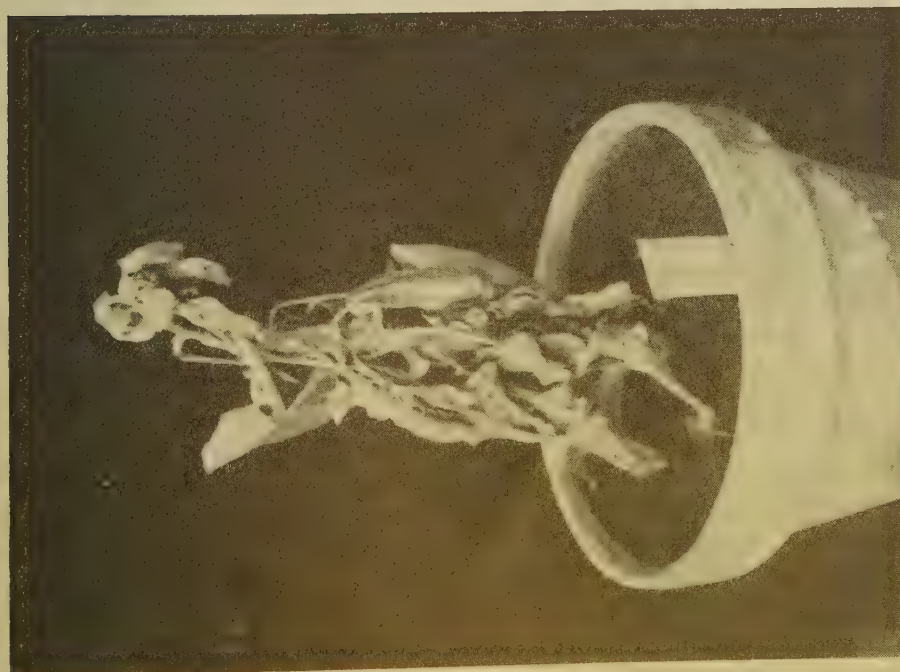


FIG. 3. — Fin de l'évolution de la maladie : le greffon de *N. glutinosa* est entièrement nécrosé.

Afin d'élucider ce problème, une seconde série de greffes fut réalisée en 1959 et les plantes furent très soigneusement observées dès l'inoculation. Le même phénomène se reproduisit au nombre de plantes près, mais une remarque intéressante devait orienter la suite des travaux. En effet, toutes les plantes qui ne présentèrent que de faibles symptômes, montrèrent très rapidement leurs premières ébauches de boutons floraux.

Le déclenchement du processus floral était-il responsable de l'impossibilité pour le virus de se généraliser chez le *N. glutinosa* ?

Pour vérifier cette remarque et cette hypothèse une troisième et double série de greffes fut pratiquée.

— la première demi-série était composée de 12 *N. tabacum* ayant été greffés avec 12 *N. glutinosa* en plein développement végétatif et ne présentant aucune ébauche florale.

— la deuxième demi-série était composée de 12 *N. tabacum* greffés avec 12 *N. glutinosa* présentant un début de hampe florale. (Nous entendons ici par « début de hampe florale » le début d'apparition de l'inflorescence, les boutons floraux ayant au maximum 2 mm de longueur).

L'inoculation eut lieu comme pour les séries précédentes et les résultats enregistrés furent les suivants :

— les 12 *N. glutinosa* de la première demi-série (sans ébauche florale) présentèrent 7 à 8 jours après l'inoculation les nécroses caractéristiques, et l'ensemble des greffons se dessécha en quelques jours. La présence du virus en quantité non négligeable fut mise en évidence sérologiquement.

— par contre aucun des 12 *N. glutinosa* ayant des boutons floraux (deuxième demi-série) ne présenta de symptômes graves et tous fleurirent et fructifièrent. Nous verrons plus loin les résultats concernant la recherche du virus dans ce cas.

DISCUSSION

Dès 1941, KÖHLER, étudiant la « résistance » du *N. glutinosa* à l'égard de la Mosaïque du Tabac avait réalisé une série de greffes analogues à celles que nous venons de décrire ; il avait également noté à cette époque, des différences notables dans le comportement des greffons de *N. glutinosa* ; ainsi, dans une de ces séries de greffes, deux greffons avaient présenté une nécrose généralisée, deux autres de faibles symptômes (quelques lésions nécrotiques sur les feuilles du sommet), et enfin deux plantes aucun symptôme. (Il se bornait dans son article à l'énumération de ces résultats).

L'exposé de nos résultats montre, une fois encore, si cela était nécessaire, l'importance de l'état physiologique de la plante lorsque l'on veut étudier le développement d'une maladie à virus ou la multiplication de l'agent pathogène. Mais ces résultats suggèrent également d'autres remarques.

On pourrait en effet supposer que des plantes présentant des ébauches florales, donc physiologiquement plus âgées que des plantes à l'état végétatif, ont un « système circulatoire » ralenti ; mais cette remarque ne peut à elle seule expliquer l'absence totale de multiplication du virus chez les plantes en voie de floraison ; en effet, des *N. glutinosa*, au stade où nous les avons pris, développent encore par la suite de nouvelles feuilles en nombre important ; ils multiplient le volume de leurs seuls organes floraux plusieurs centaines de fois et tout ceci représente un appel d'eau encore important et un apport de substances élaborées non négligeable. Il est donc, à notre

avis, impensable qu'un simple ralentissement de la circulation de la sève explique les phénomènes décrits.

KÖHLER a d'ailleurs montré en 1941, dans l'étude citée plus haut, que le virus de la Mosaïque du Tabac ne restait pas localisé dans les lésions locales ; en effet lorsque l'inoculum est suffisamment concentré, on trouve du virus jusque dans le pétiole de la feuille inoculée ; mais ce virus ne s'y multiplie pas et il est incapable d'envahir les autres tissus.

Deux hypothèses parmi d'autres, nous semblent séduisantes. La première voudrait qu'il y ait chez la plante inoculée, au niveau de la cellule, compétition entre la synthèse des nucléoprotéines normales et celles de la nucléoprotéine-virus ; cette compétition serait en faveur de la nucléoprotéine-virus tant que la plante est à l'état végétatif (avec des réactions plus ou moins violentes, donc des symptômes très différents, suivant la nature de la nucléoprotéine-virus et de la plante-hôte). La compétition pencherait en faveur du métabolisme normal à partir du déclenchement du processus floral, c'est-à-dire à un moment où la plante doit fabriquer de grandes quantités de nucléoprotéines normales (pollen, ovules).

La deuxième hypothèse nous est suggérée par des résultats expérimentaux complémentaires. En effet, la recherche du virus dans les différents organes des greffons de *N. glutinosa* présentant des ébauches florales, nous a montré que le virus n'était pas détectable dans les organes floraux, ni dans les feuilles du greffon ; par contre il est présent dans la tige de ces mêmes greffons, (remarque déjà faite par KÖHLER) ; ceci montre qu'il a traversé le bourrelet de greffe ; il est présent dans certains tissus du *N. glutinosa*, mais il est incapable de s'y multiplier.

Le déclenchement du processus floral crée donc, au moins chez le *N. glutinosa*, une barrière à la multiplication du virus. Quelle est la nature de cette barrière ?

Les résultats obtenus semblent montrer qu'elle n'est pas de nature purement physique (présence du virus dans la tige).

Elle est peut être de nature physico-chimique : l'évolution des symptômes et de la maladie chez les greffons à l'état végétatif montre en effet que le virus traverse toute la tige du *N. glutinosa* et se multiplie de préférence dans certains sites privilégiés : les jeunes feuilles du sommet. On peut supposer que dans la plante présentant des ébauches florales, il existe en quantité importante des inhibiteurs d'installation du virus, qui empêcheraient tout accroissement en quantité de la nucléoprotéine virus. On peut d'ailleurs supposer, dans le même ordre d'idées, que la structure des « récepteurs de virus » est modifiée d'une façon telle qu'ils sont incapables de jouer leur rôle au moment où la plante passe en phase de reproduction.

Enfin, la « barrière » peut être de nature purement chimique : le déclenchement du processus floral s'accompagnant de la production d'un inhibiteur de multiplication du virus.

On peut évidemment émettre d'autres hypothèses. Mais d'autres travaux sont nécessaires avant de pouvoir choisir l'une d'entre elles.

RÉSUMÉ

Pour étudier le processus de formation des lésions locales dans le cas de maladies à virus, on a essayé d'obtenir la généralisation du virus dans la plante hôte hypersensible.

Pour cela, on a greffé des *Nicotiana glutinosa* sur des *Nicotiana tabacum* et on a inoculé ces derniers avec le virus de la Mosaïque du Tabac.

Lorsque le greffon n'avait pas encore d'ébauche florale il y a eu généralisation du virus. Par contre, la présence de boutons floraux a empêché la multiplication du virus dans l'hôte hypersensible.

Diverses hypothèses sont émises pour tenter d'expliquer ce phénomène.

Reçu pour publication le 21 octobre 1960.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- KÖHLER E., 1941. Ueber die Resistenzeigenschaften von *Nicotiana glutinosa* gegenüber dem Tabakmosaikvirus. *Z. Pflanzenk. und Pflanzenschutz.*, **51**, 449-462.
-

EFFET DE MESURES PROPHYLACTIQUES SIMPLES SUR LA DISSEMINATION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DE LA LAITUE EN CULTURE GRAINIÈRE ET SUR LA TRANSMISSION DE CE VIRUS PAR LA GRAINE

J. MARROU ⁽¹⁾

Avec la collaboration technique de M. GALLET.

Station centrale de Pathologie végétale, Centre national de Recherches agronomiques, Versailles.

La production de graines de laitues sans virus nécessite une sélection sanitaire sévère des porte-graines. Le choix de laitues indemnes de virus est aisé en serres, mais leur culture en plein air à l'abri des contaminations est beaucoup plus délicate. Selon GROGAN, il faut les isoler à vingt kilomètres au moins de toute culture importante de laitues susceptibles d'héberger le virus de la Mosaïque de la laitue et ses insectes vecteurs. Cet isolement géographique est souvent difficile à réaliser. Le but de cette étude est de voir s'il est possible d'éviter cet inconvénient.

Les travaux de BROADBENT sur la dissémination de la Mosaïque de la laitue dans les champs, ont montré que les foyers de contamination créés par les pucerons ailés (*Myzus persicae*), provenant de cultures contaminées, étaient généralement groupés sur les premiers rangs et rares au centre du champ. Nous avons donc essayé d'isoler des porte-graines de laitue en utilisant les premiers rangs comme écran protecteur et en appliquant des mesures prophylactiques (lutte contre les insectes vecteurs, épuration).

DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL

Deux parcelles carrées (I et II) de 1 500 à 1 600 laitues des variétés « Blonde du Châtelet » ou « Trocadéro » ont été cultivées pour ces essais en Anjou et dans trois communes (A. B. C.) de la région parisienne, c'est-à-dire dans des zones normales de production grainière, mais en évitant de placer les essais à proximité immédiate de cultures de laitues non sélectionnées.

Ces parcelles d'essais ont été divisées de telle sorte que chacune d'entre elles comporte une zone centrale, entourée de trois zones de même surface, dans lesquelles les notations et la récolte ont été faites séparément.

Les parcelles d'essais ont été plantées de laitues indemnes de virus sélectionnées en serre, par la méthode GROGAN. Pour limiter les risques de contamination, des traitements aphicides avec un ester phosphorique télétoxique (Méthylmeton 0,1 p. 100) ont été répétés tous les quinze jours sur

(1) Avec le concours du Service de la Protection des Végétaux d'Angers et des Etablissements CLAUSE PORTON-GILADEAU et VILMORIN.

les parcelles d'essais. De tels traitements, s'ils limitent la pullulation des insectes vecteurs n'empêchent pas la formation de quelques foyers de contamination ; il était donc nécessaire de les accompagner d'une épuration sévère des parcelles : sitôt détectées, les plantes malades étaient éliminées.

ZINC et GROGAN ont bien montré que l'épuration répétée des cultures permettait de limiter dans une certaine mesure les pertes provoquées en culture maraîchère par le virus de la Mosaïque de la Laitue, sans toutefois obtenir d'aussi bons résultats que par l'utilisation de graines sans virus. Mais en culture grainière, on pouvait penser que de telles mesures prophylactiques retarderaient suffisamment la contamination des porte-graines pour qu'elle n'ait plus d'incidence sur l'état sanitaire des graines produites.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1°. *Évolution de la maladie dans l'ensemble de chaque parcelle d'essai.* — La première épuration a eu lieu 22 ou 25 jours après la plantation ; elle a été ensuite suivie par quatre ou cinq autres, échelonnées jusqu'au 44^e jour. La proportion de laitues malades a été calculée à chaque épuration, puis lors de deux contrôles supplémentaires (tableau I).

TABLEAU I

Proportion de laitues malades dans les parcelles d'essai de la plantation à la récolte.

Parcelle	Temps en jours depuis la plantation							
	0	22	25	30	36	44	50	68
Seine & Oise								
AI	0 %	5,6 %	9,48 %	20,12 %	26,8 %	39,7 %	41,5 %	—
AII	0 %	8 %	10,2 %	21,7 %	25,4 %	34 %	37 %	98,4 %
BII	0 %	—	1,48 %	—	5,2 %	5,2 %	5,2 %	57 %
CI	0 %	—	4,33 %	9,3 %	10,4 %	10,7 %	11 %	100 %
CII	0 %	—	3 %	6,8 %	8,7 %	9,3 %	9,5 %	100 %
Anjou								
I	0 %	4,8 %	—	—	9,87 %	—	—	14,2 %
II	0 %	7,8 %	—	—	12,3 %	—	—	16,7 %

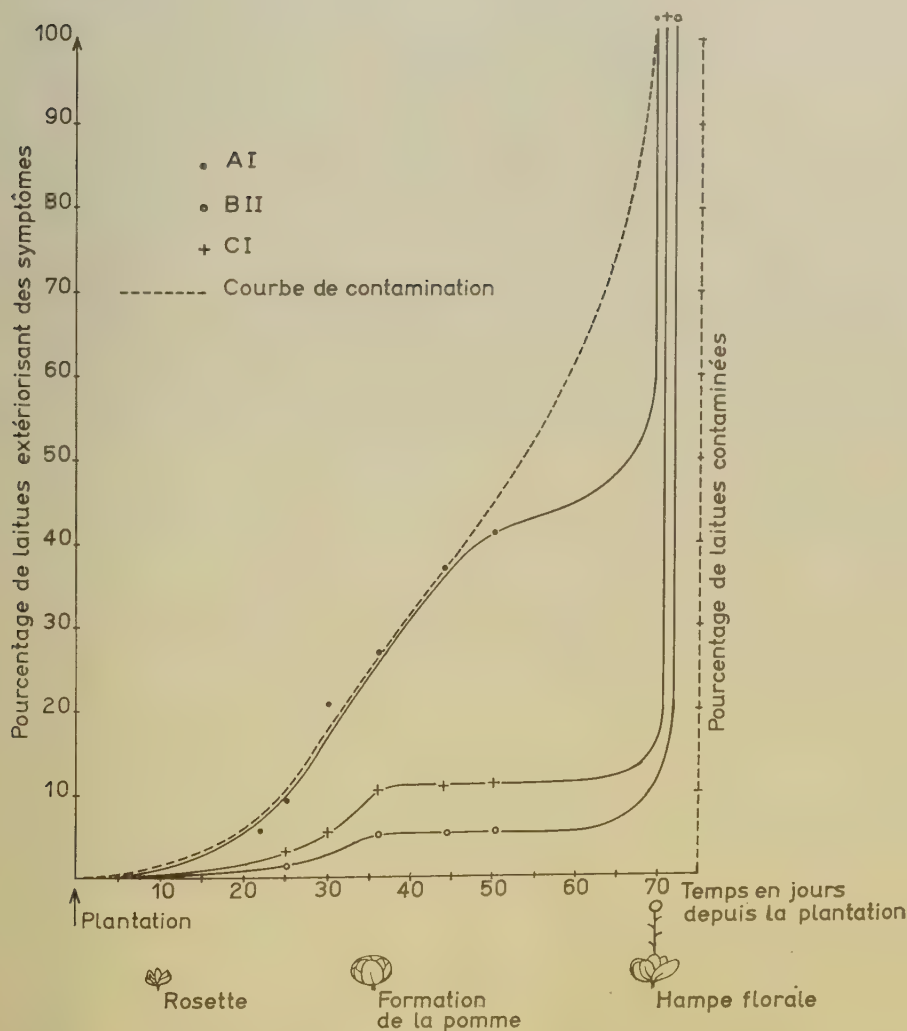
Dans la région parisienne (S. et O) la contamination a été particulièrement importante et rapide malgré les traitements aphicides ; elle a été beaucoup plus réduite en Anjou.

Si l'on considère la courbe établie en portant en abscisse le temps en jours écoulés depuis la plantation en plein champ, et en ordonnée le pourcentage de plantes présentant des symptômes nets de Mosaïque, on remarque trois périodes successives : la première du 22^e au 35^e jour, au cours de laquelle le nombre de plantes extériorisant des symptômes de Mosaïque augmente de façon continue et progressive ; du 35^e au 60^e jour par contre, ce taux varie peu, la courbe marque un palier ; brusquement vers le 60^e jour le nombre de plantes porteuses de Mosaïque augmente de façon considérable. Il est intéressant de comparer cette courbe à celle de la croissance de la laitue. La première période coïncide au stade rosette, la seconde à la formation et à la maturation de la pomme, la troisième à la montée à graine et à la floraison. Sur la laitue, les symptômes de Mosaïque sont visibles au début de la croissance et à la montée à graine ; ils sont par contre masqués à la formation de la pomme.

Dans la parcelle A, de mauvaises conditions culturales ont retardé la formation de la pomme (50^e jour) et la maladie a été visible plus longtemps ; on peut penser que dans ce cas la courbe d'extériorisation des symptômes entre le jour de la plantation

GRAPHIQUE

Extériorisation des symptômes de la Mosaïque de la Laitue
et vitesse de contamination.



et le 45^e jour se superpose à la courbe de contamination. Cette dernière courbe a été extrapolée à partir des points expérimentaux obtenus dans la parcelle A.

Au stade pomme, les laitues, bien que sans symptôme, restent sensibles à la contamination, elle n'est visible qu'à la montée de la graine.

2^o Répartition des plantes malades à l'intérieur des parcelles. — L'emplacement des plantes épurées ayant été repéré, il a été possible d'étudier la répartition des plantes malades dans chaque subdivision des parcelles. Pour chacune d'entre

elles, les résultats exprimés en pourcentage de laitues malades sont indiqués dans le tableau 2.

TABLEAU 2

Pourcentages de laitues malades en fonction de la localisation dans le champ.

Parcelle	1 ^{re} zone (externe)	2 ^e zone	3 ^e zone	4 ^e zone (centre)
Seine & Oise				
AI	31 %	25,5 %	30,5 %	23,5 %
BII	4,1 %	4,1 %	4,8 %	6,8 %
C. I.	12,8 %	5,6 %	7,6 %	4,6 %
C. II.	9,9 %	7,7 %	10,7 %	7 %
Anjou				
I	10,3 %	8,5 %	9,5 %	6,6 %
II	25,2 %	14,1 %	16,3 %	8,9 %

En Anjou, on peut noter une différence notable du taux de laitues malades entre les bordures et le centre des parcelles d'essais ; seuls les pucerons aptères ont dû jouer un rôle dans la dissémination du virus probablement parce que la plantation a été tardive (15 mai). En Seine-et-Oise la plantation a été effectuée de façon plus précoce (25 avril), les pucerons ailés ont dû créer des foyers de contamination primaire répartis au hasard sur toute la surface des parcelles, et on ne constate pas de gradient de contamination.

3^o *Contrôle des graines récoltées.* — A maturité les porte-graines ont été moissonnés et battus séparément dans chaque subdivision des parcelles. Un échantillonnage de 3 000 graines a été prélevé sur la récolte de chacune d'elles. Quelques centaines de graines ont été cultivées en serres, à l'abri des contaminations extérieures pour déterminer approximativement le taux de transmission du virus. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Contrôle du taux de transmission du virus par la graine.

Zone	Parcelles											
	B I		B II		C I		C II		Anjou I		Anjou II	
	Nb. de plantes testées	% transmission	Nb. de plantes testées	% transmission	Nb. de plantes testées	% transmission	Nb. de plantes testées	% transmission	Nb. de plantes testées	% transmission	Nb. de plantes testées	% transmission
Zone I	400	3,5 %	200	5	100	2	100	1	400	1,5	200	1
Zone II	400	1,5	100	2	100	2	100	0	400	0,5	100	1
Zone III	400	3	100	1	—	—	—	—	400	0	100	0
Zone IV	400	2,25	500	2,2	200	1,5	200	1,5	400	0,5	400	0,5

Les résultats de ce premier sondage montrent que dans la région parisienne les mesures prophylactiques appliquées n'ont pas permis d'empêcher la contamination des graines. Le taux de transmission moyen, calculé sur 2 000 échantillons est de 2,7 p. 100 ; il n'a pas été possible de mettre en évidence une différence notable entre les lots de graines récoltées sur les rangs de bordure et le centre de la parcelle.

En Anjou, par contre, le taux de transmission moyen des graines est de 0,7 p. 100 et il semble exister un gradient de ce taux entre les lots de graines récoltées en périphérie et au centre du champ.

CONCLUSION

Les observations faites sur l'extériorisation des symptômes de Mosaïque au cours de la croissance de la laitue concordent avec celle d'AINSWORTH et de GROGAN : les symptômes disparaissent au moment de la formation de la pomme mais la contamination des plantes se poursuit.

Ces essais montrent que pour espérer conserver en bon état sanitaire des portegraines de laitues au centre d'un champ protégé par des bordures, il faut :

- des parcelles suffisamment grandes,
- planter tardivement pour échapper aux contaminations par les pucerons ailés,
- effectuer des traitements aphicides.

Reçu pour publication le 21 Octobre 1960.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AINSWORTH G. C., OGILVIE L., 1939. Lettuce mosaic. *Ann. Appl. Biol.*, **26**, 279-297.
BROADBENT L., TINSLEY T. W., BUDDIN W., ROBERTS E. T., 1951. The spread of lettuce mosaic in the field. *Ann. Appl. Biol.*, **38**, 689-706.
GROGAN R. G., WELCH J. E., BARDIN R., 1952. Common lettuce mosaic and its control by the use of mosaic free seed. *Phytopathology.*, **42**, 573-577.
ZINC F. W., GROGAN R. G., WELCH J. E., 1956. The effect of the percentage of seed transmission upon subsequent spread of lettuce mosaic virus. *Phytopathology.*, **46**, 662-664.
ZINC F. W., GROGAN R. G., 1957. The comparative effect of Mosaic free seed and roguing as a control for common lettuce mosaic. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **70**, 277.
-

CONTRIBUTION A LA MISE AU POINT DE MÉTHODES DE LUTTE CHIMIQUE CONTRE LA FORME GALLICOLE DU PHYLLOXERA DE LA VIGNE

Phylloxera vitifolii FITCH.

D. SCHVESTER

*Station de Zoologie agricole, Centre de Recherches agronomiques du Sud-Ouest,
Pont de la Maye (Gironde).*

PLAN DU MÉMOIRE

INTRODUCTION.

THÈME DES ESSAIS.

- 1^o Essais de 1959.
 - a) Traitements de repos de la végétation.
 - b) Traitements en végétation.
- 2^o Essais de 1960.

RÉSULTATS.

- 1^o Action insecticide.
 - a) Des traitements de repos de la végétation (1959).
 - b) Des traitements en végétation (1959-1960).
- 2^o Action sur la végétation.
- 3^o Action sur la récolte.
 - a) Données qualitatives.
 - b) Données quantitatives.

DISCUSSION.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

INTRODUCTION

De nombreux hybrides de vignes, qu'il s'agisse de porte-greffes ou de producteurs sont, on le sait, sensibles au *Phylloxéra* gallicole. Au déplorable aspect que les fortes infestations de gallicoles confèrent au vignoble, s'ajoute un amoindrissement considérable du végétal, provoquant dans les champs de pieds-mères de porte-greffes, des baisses importantes du rendement en « boutures greffables » et, (la suite le démontrera), chez les producteurs, une perte de récolte en qualité comme en quantité.

On peut concevoir pour la lutte chimique deux voies différentes ; d'une part, le traitement au repos de la végétation (traitement « d'hiver ») dirigé contre l'œuf

d'hiver que l'on sait pondu sur les bois âgés de deux ans ou plus. D'autre part, l'utilisation en cours de végétation, de produits aphicides.

Le précurseur du premier procédé est sans conteste le « badigeonnage Balbiani », encore souvent cité même dans des publications récentes, mais qui paraît *à priori* pouvoir être avantageusement remplacé par des pulvérisations à base de formules ovicides modernes.

Dans le domaine du second, les résultats encourageant obtenus avec l'HCH par FREZAL dès 1946, suggéraient l'emploi du lindane, dépourvu des nombreux inconvénients de l'HCH technique. D'ailleurs, des expériences allemandes venaient bientôt confirmer les possibilités de cet insecticide (par ex. Götz, 1952). Mais il était en outre naturel de songer à l'utilisation d'esters phosphoriques, singulièrement ceux doués de propriétés endothérapiques, dont on pouvait penser qu'ils puissent agir sur l'Insecte au travers des tissus de la cécidie.

Nous avons donc entrepris sur ces bases, une série d'expériences, avec l'idée directrice essentielle de restreindre au strict minimum possible le nombre des interventions.

THÈME DES ESSAIS

Les essais ont tous eu lieu en un même vignoble d'hybrides 18-315 SV en majorité, situé à Crouseilles (B. P.) ⁽¹⁾ sur un coteau assez escarpé (pente de 30 à 40 p. 100). La date de plantation diffère selon les parcelles et sera précisée dans ce qui suit. La plantation est en lignes à intervalles de 2 m dans le sens de la pente, avec une distance sur la ligne de 1 m entre les ceps. La taille pratiquée est une taille à coursons du type « gobelet méridional ».

Dans le courant de 1958, ce vignoble avait été entièrement infesté de *Phylloxéra gallicole*, au point que, dès le début de juillet, les feuilles se trouvaient atrophiées à mesure de leur apparition et que les insectes en grand nombre, s'établissaient déjà sur les jeunes sarments et les vrilles.

Pour la bonne compréhension de l'ensemble, nous croyons utile de donner quelques dates repères concernant le cycle du *Phylloxéra gallicole* au lieu considéré. Ces renseignements sont tirés de l'observation directe : nous avons pu en particulier séparer correctement, grâce précisément aux effets de divers traitements, les dates d'apparition des générations successives, au moins tant que cela nous fut utile.

Les galles de fondatrices sont bien développées et peuvent être considérées comme toutes implantées vers le 10 mai.

Éclosion de la première génération gallicole : vers le 20 mai.

— de la deuxième — : vers le 15-20 juin.

— de la troisième — : vers le 10 juillet environ.

Ces dates repères furent à peu près semblables en 1959 et en 1960.

Une première série d'essais effectuée en 1959 était destinée à définir l'efficacité de divers produits, à savoir, d'une part des ovicides utilisables seulement en traitement de repos de la végétation (traitements « d'hiver »), d'autre part, des aphicides utilisables en cours de végétation.

Le succès de certains de ces traitements nous a permis en fin de campagne de procéder à des comparaisons sur la valeur et la quantité de la récolte, respectivement dans les parcelles débarrassées de gallicoles et dans celles demeurées infestées. Ces constatations qui justifient en quelque sorte l'utilité d'une intervention ont déjà fait l'objet d'une note (SCHVESTER 1960). Nous croyons cependant utile d'y revenir dans ces pages.

Une deuxième série d'essais mis en place en 1960 était plus spécialement destinée à préciser le mode d'action du lindane, qui, l'année précédente, nous avait donné d'excellents résultats. Nous cherchions en outre à élargir et préciser les possibilités d'intervention avec ce produit.

⁽¹⁾ Je tiens à remercier ici chaleureusement M. Y. PETIT, propriétaire du château de Crouseilles (B. P.), pour l'amabilité avec laquelle il m'a toujours reçu et mis ses plantations à ma disposition ainsi que pour l'aide qu'il n'a jamais manqué de m'apporter tant pour l'exécution des essais que pour les observations. Je voudrais de même remercier M. J. SOLIGNAC, Agent technique de l'A. R. V. A. en résidence à Eauze (Gers) pour l'aide qu'à cette occasion, comme en tant d'autres, il ne m'a pas ménagée (D. S.).

1^o ESSAIS DE 1959.a) *Traitements au repos de la végétation.*

Essai n° 1. — Il comporte une parcelle de 22 rangs de 26 pieds de 18-315 SV plantés en 1954. La moitié, soit 11 rangs, fut traitée avec une bouillie à 3 p. 100 d'un produit commercial contenant :

- huile d'anthracène : 45 p. 100
- dinitroorthocrésol : 10 p. 100

... l'autre moitié réservée comme témoin sans traitement, le but de l'essai étant non seulement de tester l'efficacité du produit en question, mais aussi d'essayer de se rendre compte de l'importance et de la profondeur des infestations secondaires éventuelles, des parties témoins vers les parties débarrassées du Phylloxéra.

Essai n° 2. — Comporte une parcelle de 42 rangs de 21 pieds de 18-315 SV plantés en 1956. Il avait pour but d'étudier comparativement l'efficacité du produit « huile d'anthracène jaune » défini ci-dessus aux deux doses de 2 p. 100 et 3 p. 100. Cette parcelle fut donc traitée avec ces bouillies, à raison de 3 répétitions de 7 rangs pour chacune de ces doses.

Essai n° 3. — Il avait pour but d'étudier comparativement l'efficacité des bouillies suivantes :

- produit à base d'huile d'anthracène et de DNOC, défini ci-dessus à la dose de 3 p. 100,
- oléoparathion à 75 p. 100 d'huile de pétrole et 3 p. 100 de parathion à la dose de 1,5 p. 100,
- oléoparathion à 75 p. 100 d'huile de pétrole et 1,5 p. 100 de parathion, à la dose de 1,5 p. 100

également.

La parcelle comportait 42 rangs de 47 pieds de 18-315 SV (plantation de 1956). Elle fut divisée en deux blocs comportant 3 parcelles de 6 rangs, traitées respectivement avec chacun des produits sus-indiqués et une parcelle témoin de 3 rangs. Nous avions donné aux parcelles traitées une largeur plus grande pour pouvoir tenir compte des « effets de bordure » et éliminer éventuellement des observations les rangs qui auraient été l'objet en cours de saison de réinfestations provenant de parcelles voisines où l'Insecte n'aurait pas été détruit. Dans le cas présent, il s'est d'ailleurs révélé par la suite que les réinfestations par les bordures avaient été inexistantes.

Tous ces traitements de repos de la végétation ont été exécutés en fin d'hiver, les 16 et 17 février 1959, la vigne étant alors taillée, mais non déchaussée et le débourrement n'étant pas encore amorcé. La pulvérisation fut effectuée à pression de 12-15 kg, jusqu'à lessivage des ceps, à l'aide d'un appareil à moteur avec lance tenue à main. Le dépense de bouillie a été de l'ordre d'environ 0,2 litre par cep. Les conditions climatiques ayant présidé au traitement ont été excellentes, le temps étant exceptionnellement beau et chaud pour la saison.

b) — *Traitements en cours de végétation.*

Essai n° 4 — Il fut exécuté sur une parcelle de 18-283 SV comportant 18 rangs de 26 pieds plantés en 1954, traitée pour moitié avec une bouillie à 220 cc par hl d'une solution émulsifiable de lindane à 13,5 g p. 100 de MA, (soit environ 30 g PA/hl) et pour l'autre moitié avec une bouillie à 100 cc par hl d'une solution émulsifiable de méthyl-déméton à 50 p. 100 (soit 50 g MA/hl).

Le traitement eut lieu les 27 et 28 mai par beau temps, à l'aide d'un pulvérisateur à dos, à jet fin sous pression de 3-4 kg. La dépense de bouillie fut d'environ 0,10 à 0,15 litre par cep en moyenne, la végétation n'étant pas encore très développée. Dans la soirée du 28 mai se déclenchait un orage avec forte pluie.

Essai n° 5 — Cet essai fut superposé à l'essai n° 3 ci-dessus lorsque aux premiers examens du 11 mai, nous nous fûmes aperçus de l'inefficacité pratique des oléoparathions (*cf. infra*) et que l'infestation menaçait. Il n'intéressa cependant que les parcelles déjà traitées aux oléoparathions l'hiver précédent. Les 24 rangs que totalisaient ces parcelles furent donc subdivisés recevant à raison de deux répétitions de trois rangs pour chaque produit, les traitements suivants ⁽¹⁾ :

- a) — une bouillie à 220 cc/hl d'une solution émulsifiable de lindane à 13,5 p. 100 soit environ 30 g MA/hl,
- b) — une bouillie à 100 cc/hl d'une solution émulsifiable à 50 p. 100 de méthyl-déméton, soit 50 g MA/hl,
- c) — une bouillie à 75 cc/hl d'une solution émulsifiable de méthyl-parathion, soit 30 g MA/hl.

Deux témoins de trois rangs étaient ménagés sur ces parcelles. Les témoins sans aucun trai-

(1) Tous les produits utilisés sont des formules commerciales.

tement de l'essai n° 3 et les parcelles ayant reçu le traitement à l'huile d'anthracène, étant évidemment conservés pour être comparés entre eux.

Un premier traitement fut exécuté avec le même appareil que dans le cas précédent, la dépense de bouillie se montant en moyenne à 0,10 litre par pied, à la date du 25 mai par beau temps. Cependant, un orage très violent avec très fortes précipitations éclatait dans la soirée.

Une deuxième application de ces traitements fut effectuée le 6 juin.

Il faut préciser que par rapport au développement de l'infestation gallicole, ces traitements en cours de végétation (au moins les premières applications des 25 et 26 mai), se situent tout au début de la première génération (génération issue de la fondatrice gallicole). Les premières galles, encore relativement peu nombreuses, provoquées par les nouveaux-nés de cette génération, avaient été observées le 23 mai sur les toutes jeunes feuilles des extrémités des sarments. Ces galles étaient encore à peine formées, bien que très visibles. Il est utile en outre d'indiquer que la floraison des 18-315 SV a commencé en 1959 vers le 30 mai, dans la vigne siège de nos essais.

2° ESSAIS DE 1960.

Essai n° 6 — A la suite des excellents résultats obtenus en 1959 avec les émulsions de lindane, nous avons cherché à préciser le mode d'action de celui-ci.

A la date choisie à dessein comme relativement précoce, du 10 mai 1960, nous avons procédé au traitement d'une cinquantaine de pieds de 18-315 SV (plantation 1956) avec une bouillie de lindane à 27 g de MA/hl, préparée à partir d'une solution émulsifiable du commerce à 135 g par litre. Comme l'année précédente, ce traitement fut effectué au pulvérisateur à dos et nécessita environ 0,10 litre de bouillie par pied.

Au préalable, nous avons repéré dans la parcelle une cinquantaine de sarments porteurs de galles primaires en assez grand nombre. Le repère placé aussi près que possible de l'extrémité du sarment dans le but d'observer la croissance, était constitué par un lien lâche de cellophane de couleur vive.

Précisons en outre que l'examen, le même jour, d'une cinquantaine de galles primaires prises dans la parcelle traitée et sur des témoins, démontrait qu'aucun nouveau-né de première génération n'était encore éclos. De fait, les premières éclosions ne furent observées que le 22 mai, soit douze jours plus tard.

Essai n° 7 — Cet essai avait pour but de confronter l'efficacité du lindane en fonction, d'une part des doses, d'autre part du nombre d'applications.

On a donc procédé, toujours avec le même appareil, et moyennant à peu près la même dose de bouillie, sur une parcelle de 18-315 SV (plantation de 1957) aux traitements suivants :

- | | |
|-----------------------------------|---|
| — lindane émulsion : 13,5 g MA/hl | — une seule application le 23 mai. |
| — lindane émulsion : 27 g | — id |
| — lindane émulsion : 13,5 g | — deux applications le 23 mai et le 1 ^{er} juin. |
| — lindane émulsion : 27 g | — id |

à raison de 200 pieds environ pour chaque traitement, l'ensemble de la parcelle étant infesté de nombreuses galles primaires réparties de façon homogène.

On n'a pas ménagé de témoins, les traitements devant être jugés les uns par rapport aux autres.

A cet essai, il a été adjoint un traitement plus tardif effectué sur 200 pieds environ avec le même lindane à 27 g MA/hl, effectué le 1^{er} juin seulement.

RÉSULTATS

Nous avons cherché à apprécier les résultats non seulement du point de vue de l'action insecticide proprement dite, des divers traitements, mais aussi, pour les essais de 1959, du point de vue de leurs actions diverses sur la végétation, ainsi même que sur la quantité et la qualité de la récolte obtenue.

1° ACTION INSECTICIDE.

a) Des traitements d'hiver (1959).

Pour le contrôle des résultats, on a procédé sur place au dénombrement des galles primaires (galles des fondatrices) sur un certain nombre de pieds, en se limitant pour chaque pied à l'examen des feuilles des trois sarments les plus développés.

Cette méthode nous paraît extrêmement sûre, surtout dans le cas de fortes infestations comme nous en avons observé. Elle est en tout cas plus expéditive que le dénombrement effectué ultérieurement d'une énorme quantité de galles de générations filles.

Les comptages ont été effectués le 11 mai 1959, les galles primaires étant déjà très bien développées, mais n'ayant pas encore donné naissance aux jeunes de la génération suivante. On avait alors 5 à 7 feuilles étalées par sarment.

On a, ultérieurement complété ces observations par un dénombrement de pieds attaqués ou non, effectué peu après l'établissement de la deuxième génération, une fois les premières galles de celle-ci bien visibles, soit à la date du 19 juin.

Essai n° 1. — Sur 100 pieds choisis au hasard à raison de 10 pieds par rang sur 10 rangs, nous avons relevé, le 11 mai :

	Témoin	Traité
	—	—
Total galles primaires ⁽¹⁾	262	8
Maximum de galles par pied	24 ⁽²⁾	2
Nombre de pieds porteurs de galles primaires	67/100	7/100

D'autre part, au 19 juin, la proportion de pieds attaqués s'établissait à 75 p. 100 environ dans la parcelle témoin contre 10 p. 100 dans la parcelle traitée aux huiles d'anthracène jaunes. Les infestations étant très intenses en général chez le témoin, nettement moins fortes chez les traités.

Ces observations démontrent donc une très bonne efficacité ovicide des huiles d'anthracène jaunes à 3 p. 100, confirmant les résultats de CAGNE, mais à l'aide d'une méthode de comptage peut-être plus sûre et plus expéditive.

Essai n° 2. — Le mauvais temps nous a empêché de faire les dénombrements détaillés de galles primaires. Mais les observations du 19 juin ont montré un taux d'infestation faible, et sensiblement équivalent (5 p. 100 environ de pieds infestés, peu intensément d'ailleurs), pour toutes les parcelles, qu'elles aient reçu la bouillie à 3 p. 100 de produit ou celle à 2 p. 100. Nous ne pensons pas que l'absence de témoins non traités attestant l'existence, au départ de l'expérience, d'œufs d'hiver, nuise à la validité des observations, car la parcelle expérimentale avait été, tout comme les autres, très infestée en 1958 et était par ailleurs enclavée et entourée de toutes parts de vignes elles-mêmes très infestées.

Nous concluons donc à une efficacité à peu près équivalente aux doses de 2 et 3 p. 100 du produit utilisé.

Essai n° 3. — Devant l'efficacité, démontrée par l'essai n° 1, des traitements à l'huile d'anthracène, nous avons limité ici à 15 le nombre de pieds examinés, pour chacune des répétitions, soit 30 pieds pour chaque traitement, à raison toujours de trois sarments par pied.

⁽¹⁾ Du moins sur les sarments examinés ; il est certain que des galles puissent exister sur d'autres sarments de pieds considérés comme ici sans galles, ce qui amènerait peut-être à diminuer le nombre de pieds « indemnes »

⁽²⁾ Ceci démontre l'intensité de l'infestation, surtout si l'on tient compte de la forte mortalité des œufs d'hiver (MAILLET).

Les résultats sont groupés ci-après :

TABLEAU I

	Témoin non traité	Oléoparathion 75 % d'huile 1,5 % parath.	Oléoparathion 75 % d'huile 3 % parath.	Huile anthracène jaune 3 %
11 mai :				
Total galles primaires	215 + 215	—	49 + 66	5 + 5
Maximum galles par pied.	18 et 69	—	9 et 17	2 et 2
Nombre de pieds porteurs de galles primaires.....	15 + 12	—	14 + 12	4 + 4
19 juin :				
Pourcentage de pieds in- festés	95 %	98 % ⁽¹⁾	98 %	5 %

⁽¹⁾ Pourcentages relevés sur parcelles restantes après application des traitements de l'essai n° 5 (cf. plus loin).

Nous avons dû renoncer en raison du mauvais temps à faire des relevés détaillés concernant l'un des oléoparathions. Un examen rapide nous a montré cependant que les galles primaires étaient dans ces parcelles assez nombreuses et bien réparties. On peut postuler par ailleurs que, étant donné sa composition, ce produit ne différant de l'autre oléoparathion que par une teneur moindre en parathion (et fabriqué d'ailleurs par la même firme) est d'une efficacité au plus égale à celui-ci.

Par conséquent, là encore, excellente efficacité des huiles d'anthracène jaunes. Efficacité relative des oléoparathions, mais tout à fait insuffisante, dans les conditions de ce traitement, compte tenu du potentiel de multiplication extrêmement élevé du *Phylloxéra gallicole* sur ce cépage.

b) *Des traitements en cours de végétation* (1959 et 1960).

Les traitements ayant été appliqués alors qu'un certain nombre de galles de première génération étaient en cours d'établissement, ils ne pouvaient évidemment les faire disparaître — ils ne pouvaient, dans la mesure où ils étaient efficaces, qu'inhiber leur développement, par la destruction du jeune Insecte déjà éclos et empêcher l'établissement de nouvelles galles par destruction des jeunes encore à éclore.

On a donc tenté de chiffrer l'efficacité de ces traitements par dénombrement des galles de première génération vides et avortées d'une part, habitées de l'autre, dénombrement effectué une fois acquise la certitude que le délai requis pour le développement de ces galles s'était bien écoulé. Cette condition était remplie les 18 et 19 juin, au début de l'établissement des galles de la deuxième génération. Nous avons complété ces observations par des dénombrements d'extrémités de sarments porteuses ou non de galles jeunes de deuxième génération, considérant cette observation comme un critère d'une survie ou de l'extermination de la première génération.

Essai n° 4 (1959). — Sur les ceps de la parcelle traitée au lindane on observe le 18 juin, que les feuilles des rangs 5 à 7 en général, à compter de l'extrémité distale des sarments, sont assez crispées et porteuses de galles, mais cependant assez bien

développées. Elles correspondent aux jeunes feuilles de la pointe des sarments porteuses de galles en début de formation au moment du traitement. Les galles sont, dans leur très grande majorité, avortées et vides. Sur 50 de ces feuilles, totalisant ensemble environ 4 000 galles, nous n'en avons trouvé que 2 portant des galles habitées au nombre respectivement de 18 et 7. Encore ces galles étaient-elles sur ces feuilles toutes localisées sur une faible surface, ce qui laisse à penser que l'Insecte a survécu grâce au seul fait que ces points n'ont pas été atteints par l'insecticide.

Au-dessus de ces feuilles, les sarments sont pour la plupart absolument normaux, exempts d'autres galles de première génération et l'examen détaillé de tous les sarments de 50 ceps ne nous a laissé voir que 6 extrémités porteuses de cécidies de deuxième génération.

Sur les ceps traités au méthyl-déméton les feuilles des rangs 5 à 7, à partir de l'extrémité et correspondant aux feuilles jeunes déjà porteuses de galles lors du traitement, sont très crispées, et à côté de galles avortées et vides, portent cependant de nombreuses galles habitées : il ne nous a pas paru nécessaire de procéder à des comptages détaillés, tellement était nette à vue la différence avec les ceps traités au lindane ; mais l'examen de 50 de ces feuilles prélevées au hasard nous a montré que toutes, sans exception, portaient des galles parfaitement formées. De plus, contrairement à ce qui s'était passé sur les vignes traitées au lindane, l'infestation de la première génération avait pu se développer après le traitement sur les feuilles apparues ultérieurement qui étaient toutes porteuses de galles habitées, et se prolongeait ainsi jusqu'à l'extrémité des sarments. A la date de l'examen, ces extrémités commençaient à être colonisées à leur tour par la deuxième génération : l'examen détaillé de 50 ceps ne nous a laissé voir qu'extrêmement peu de pointes de sarments exemptes de ces jeunes galles.

On peut donc conclure à une excellente efficacité du traitement au lindane et par contre, à un effet très médiocre seulement du méthyl-déméton, effet qui ne se serait pas prolongé au-delà d'une certaine action de choc. L'activité endotherapique de cet insecticide semble bien ne s'être pas du tout manifestée.

Essai n° 5 (1959). — Les constatations concernant les parcelles traitées au lindane sont identiques à celles de l'essai n° 4. L'examen détaillé sans dénombrement toutefois, de 50 feuilles porteuses de galles ne nous a pas laissé voir une seule galle habitée de première génération. Et, sur 100 ceps examinés, nous n'avons trouvé que de très rares extrémités infestées de galles de deuxième génération.

Les parcelles traitées au méthyl-déméton permettaient des observations de même nature que dans l'essai n° 4. On observait cependant un nombre un peu plus important peut-être de galles avortées de première génération, sans doute en raison du redoublement du traitement.

Les ceps traités au méthyl-parathion présentaient un aspect sensiblement identique à ceux traités au méthyl-déméton. Peut-être pouvait-on ici observer une mortalité sensiblement supérieure à celle obtenue par le méthyl-déméton. Dans les deux cas cependant, le taux de survie était largement suffisant pour assurer le développement de l'infestation gallicole, les extrémités des ceps étant en quasi-totalité infestées par la deuxième génération.

Donc là encore, excellente efficacité du lindane ; effet médiocre du méthyl-parathion et du méthyl-déméton.

Essai n° 6 (1960). — Le contrôle fut effectué le 14 juin, peu avant la sortie des gallicoles de deuxième génération.

Nous avons constaté sur tous les ceps traités le 10 mai, l'absence totale de galles de première génération au-dessus du repère de cellophane. Inversement, les ceps témoins se trouvaient tous plus ou moins infestés et couverts de galles.

Nous avons procédé à l'examen d'une centaine de galles primaires prélevées sur les ceps traités. Elles recélaient à l'intérieur, la fondatrice morte, au milieu d'œufs et même de jeunes gallicoles nouveaux-nés, tous morts eux aussi.

Tout en confirmant l'efficacité du lindane sur le *Phylloxéra* gallicole, ces observations montrent que sa haute activité est due au fait qu'il détruit non seulement les jeunes insectes non encore enfermés dans leurs galles, mais qu'il pénètre aussi, d'une façon ou d'une autre, dans les galles âgées où il exerce une action ovicide et ovaricide.

Essai n° 7. — Les examens détaillés effectués le 14 juin montrent que tous les ceps traités, quelle que soit la dose utilisée et le nombre d'applications, sont absolument indemnes d'infestation phylloxérique, bien que richement pourvus à l'origine en galles de fondatrices. Hormis ces dernières, les seules cécidies observées sont celles qui étaient au début de leur formation lors du traitement, le 23 mai, toutes étaient avortées et vides d'insectes et il ne nous a pas été possible d'en trouver une seule habitée.

Confirmant donc l'efficacité du lindane, ces résultats indiquent en outre que son emploi à dose normale de 13 à 15 g par hl, à raison même d'une seule application à date judicieuse, suffit à assurer une protection à peu près complète des vignes contre le *Phylloxéra* gallicole.

2° ACTION SUR LA VÉGÉTATION.

Les contrôles de l'action insecticide proprement dite ont été prolongés en 1959 par des observations sur l'aspect de la végétation dans le courant de l'été, notamment un examen d'ensemble effectué le 10 août, soit au début de la véraison.

Essai n° 1. Témoin. — Au 10 août, la vigne présente un aspect d'ensemble souffreteux. Les extrémités des sarments sont dénudées. Présence de galles sur sarments et sur vrilles (moindre toutefois qu'en 1958). Le développement général est aussi moins important qu'en 1958.

La véraison et la maturation sont irrégulières.

Ultérieurement, la chute des feuilles sera plus précoce que dans la parcelle traitée.

Traité. — (Huiles d'anthracène jaunes). Au 10 août, malgré quelques irrégularités dans la végétation dues apparemment surtout à des hétérogénéités du terrain, particulièrement en haut de pente, l'aspect général est très bon. Feuilles entièrement vertes et saines, sauf sur quelques ceps épars (correspondant aux œufs d'hiver survivants) — on note quelques infestations sans gravité aux extrémités.

Essai n° 2. — Au 10 août, l'ensemble de la parcelle revêt un aspect semblable à celui de la parcelle traitée de l'essai n° 1, ci-dessus.

Essai n° 3 et 5. — Les témoins sans aucun traitement ont un aspect extrêmement médiocre (bien que l'une des parcelles soit à vue, sensiblement meilleure que l'autre), sarments nettement plus courts que dans les parcelles débarrassées de gallicoles, dénudées, ultérieurement ; vers le 10-15 septembre, la chute des feuilles y sera nettement plus rapide.

Les parcelles traitées au méthyl-déméton (+ oléoparathion antérieurement), au méthyl-parathion (+ oléoparathion antérieurement) et les parcelles n'ayant reçu que les oléoparathions, ne présentent à vue que peu de différences par rapport aux témoins sans traitement.

Les parcelles traitées en hiver aux huiles, et celles traitées au printemps au lindane, sont par contre d'un très bel aspect, tranchant nettement sur les autres. Sarments plus développés, conservant leurs feuilles. Sur les premières, on note comme dans les cas précédents, quelques pieds épars relativement fortement infestés et, çà et là, quelques infestations bénignes sur pousses. Il n'est rien de tel sur les parcelles ayant reçu du lindane, qui se trouvent totalement débarrassées de l'infestation dont le début avait été noté fin mai.

Essai n° 4. — La parcelle traitée au méthyl-déméton montre de nombreuses infestations, moins importantes toutefois que sur les 18-315 SV. Il convient de signaler que le 18-283 nous a paru moins sensible au gallicole que le 18-315 et qu'en tous cas, c'était la première année qu'il se trouvait attaqué, malgré le voisinage de plantations de 18-315 de même âge et attaquées, elles, depuis deux ou trois ans au moins.

La parcelle traitée au lindane présente une végétation normale avec quelques infestations aux extrémités.

Dans l'ensemble, nous noterons ultérieurement (du 20 août au 30 septembre) une véraison et une maturation beaucoup plus régulière, des grains plus gros, plus charnus (*cf. infra*) et des vendanges de très bel aspect, dans les parcelles d'où le gallicole a pu être éliminé. Au contraire, une véraison irrégulière, de nombreux grains restant plus longtemps verts, plus petits, dans les parcelles qui sont demeurées infestées.

Notons que les passages de gallicoles d'un rang à l'autre au cours de l'été, ont été pratiquement inexistants. En effet, les rangs traités, immédiatement voisins des rangs demeurés infestés, n'ont dans le cas présent, pas été réinfestés en cours d'année et présentaient un aspect identique aux rangs du milieu de leur parcelle respective. Une part de ceci peut au moins être attribuée au fait que la sécheresse qui a sévi en 1959 (jusqu'à mi-août dans cette région), a réduit la pousse de ces vignes (dont les sarments étaient effectivement moins développés en longueur qu'en 1958), réduisant considérablement, sinon supprimant les contacts de rang à rang, voire de pied à pied.

3° ACTION SUR LA RÉCOLTE

Le succès de certains traitements en 1959 nous a permis de procéder à des mesures et des pesées permettant une estimation correcte des pertes dues à l'infestation gallicole et par là, de la rentabilité des traitements.

Nous avons dû cependant éliminer de ces observations les parcelles où certaines hétérogénéités de végétation, risquaient non seulement de compliquer le travail, mais aussi d'altérer les résultats.

Pour une raison analogue, nous n'avons pu reprendre ces mesures en 1960, de nombreux cas d'accidents de végétation attribuables à une asphyxie radiculaire consécutive aux fortes pluies d'hiver, étant apparus au cours de la saison.

Ces observations portent donc uniquement sur la parcelle ayant fait l'objet de l'essai n° 3, puis de l'essai n° 5, parcelle de grande taille, mais assez homogène. Nous ne cherchions aucunement à établir une échelle de nocuité du *Phylloxéra* gallicole en fonction de l'intensité de l'infestation, mais seulement à constater cette nocuité dans le cas d'infestations intenses. Les observations concernent donc :

- les parcelles traitées en hiver aux huiles d'anthracène jaunes, pratiquement indemnes de *Phylloxéra*,
- les parcelles traitées au lindane, au printemps, également indemnes.
- les parcelles n'ayant reçu aucun traitement, très fortement infestées.

a) — *Données qualitatives*

Nous avons procédé en 1959 à des contrôles périodiques de maturation échelonnés de 10 jours en 10 jours, du 26 août au 4 octobre, date de la vendange.

Sur le rang du milieu de chaque parcelle en cause, on prélevait un échantillon de 100 grains pris au hasard, soit en tout 6 échantillons.

Les jus de chaque échantillon étaient, après pressurage et filtrage titrés en alcool probable au réfractomètre, à raison de deux mesures par échantillon, la valeur finalement retenue étant la moyenne des deux. (On n'a d'ailleurs régulièrement observé que très peu de différence entre les deux mesures pour un même échantillon).

Les résultats de ces mesures sont fournis au tableau 2.

TABLEAU 2
Indice réfractométrique et alcool probable d'échantillons de jus.

	Indice réfractométrique (après correction de température)			Alcool probable (moyenne pour les deux parcelles)		
	1	2	3	1	2	3
28 août 1959	13,3 13,0	13,3 13,3	11,8 11,6	7°0	7°1	6°0
4 septembre	15,4 15,4	15,4 15,4	13,2 13,2	8°4	8°4	7°0
14 septembre	16,6 16,5	16,3 16,4	13,6 14,0	9°0	9°0	7°2
24 septembre	17,0 17,0	17,6 17,7	14,4 14,2	9°4	9°8	7°6
6 octobre (vendange)	16,4 16,2	16,6 16,4	13,8 13,4	8°9	9°1	7°1

1 — Échantillons prélevés sur vignes indemnes de *Phylloxéra* gallicole, après traitement au lindane (ayant succédé à un traitement aux oléoparathions en hiver, inefficace).

2 — Échantillons prélevés sur vigne indemnes de *Phylloxéra* gallicole après traitement d'hiver aux huiles d'anthracène + DNOC.

3 — Échantillons prélevés sur Vignes infestées de *Phylloxéra* gallicole (sans aucun traitement).

On constate que les parcelles témoins fortement phylloxérées accusent des indices réfractométriques nettement et régulièrement plus bas que les parcelles d'où le *Phylloxéra* a pu être éliminé : traduites en degré d'alcool probable, ces mesures font

accuser aux parcelles témoins, une différence de l'ordre de 1^o à leur détriment dès le début de la maturation. Au cours de celle-ci, la différence s'accroît pour atteindre l'ordre de grandeur de 2^o au moment de la vendange.

b) — Données quantitatives

Une première donnée intéressante, nous fut fournie par le poids des prélèvements ayant servi aux mesures qualitatives. Dès les premiers échantillonnages, le poids des 100 grains était dans les témoins, inférieur d'environ 10 p. 100 à ce qu'il était dans les traités : nous avons déjà dit qu'à vue d'ailleurs, les grains dans ces derniers étaient nettement plus gros.

Ces différences s'accroissent progressivement pour atteindre presque 20 p. 100 au troisième prélèvement, le 14 septembre 1959. Elles s'amenuisaient cependant, ramenées à 12-15 p. 100 le 24 septembre 1959, grâce peut-être aux abondantes pluies survenues entre temps.

Ces données sont fournies au tableau ci-après :

TABLEAU 3
*Poids en grammes de 100 grains des échantillons prélevés sur vignes
infestées ou non de Phylloxera gallicole.*

		1	2	3
28 août 1959	a)	174	166	142
	b)	171	168	149
4 septembre	a)	177	167	141
	b)	171	178	155
14 septembre	a)	188	186	147
	b)	185	182	152
24 septembre	a)	202	189	167
	b)	198	193	174
6 octobre	a)	210	200	160
	b)	205	195	170

Légende de 1, 2 et 3, voir tableau précédent.

Par contre, les résultats des pesées de récolte ne sont pas très nets. Nous avons pesé séparément, rang par rang, les récoltes de 3 rangs de chacune des parcelles. Les résultats sont consignés au tableau suivant :

TABLEAU 4
Pesées de récolte.

Bloc 1	Poids par rang (kg)			Total	Moyenne
Traitements					
1	37,0	44,0	47,0	128,0	42,6
2	53,5	38,5	42,0	134,0	44,7
3	28,5	27,0	32,0	87,5	29,2
Bloc 2					
Traitements					
1	51,5	48,0	35,5	135,0	45,0
2	49,5	47,5	51,0	147,5	49,2
3	37,5	43,5	50,5	131,5	43,8

Pour l'un des blocs, la différence est extrêmement nette, mais une partie nous semble attribuable à d'autres facteurs que l'infestation phylloxérique (gradients de fertilité par le travers de la parcelle expérimentale, pourriture et perte de la récolte sur un certain nombre de pieds, etc...). Une légère différence demeure cependant dans l'autre bloc.

Il serait donc délicat de conclure à une diminution de récolte en poids du fait de l'infestation phylloxérique sur ces seules données. Cependant, les différences observées sur le poids de 100 grains, et qui sont significatives nous permettent d'affirmer que, toutes choses égales d'ailleurs, il en est bien ainsi.

DISCUSSION

Il est donc possible de lutter efficacement contre le *Phylloxéra gallicole* au moyen d'un seul et unique traitement, effectué :

- soit en fin d'hiver, avec des huiles d'anthracène additionnées de colorants nitrés (environ 1 kg à 1,500 kg d'huile et 200 à 300g de colorant par hl de bouillie) ;
- soit au printemps (mois de mai) au plus tard dès l'apparition des galles de première génération, lorsque celles-ci sont encore peu développées, avec du lindane en émulsion à raison de 12-15 g et jusqu'à 25-30 g de MA /hl.

Concernant les traitements « d'hiver », il faut observer cependant que l'infériorité des oléoparathions par rapport aux huiles d'anthracène jaunes telle que nous l'avons observée, n'est peut-être pas absolue. Il est possible et même vraisemblable que les oléoparathions voient leur efficacité améliorée lorsqu'ils sont appliqués plus tardivement, en « pré-débourrement », c'est-à-dire au gonflement des bourgeons (F. (F. CHABOUSSOU), méthode qui ferait par contre courir un certain risque aux vignes avec les huiles d'anthracène.

A noter cependant, à l'avantage des huiles d'anthracène jaunes, leur plus grande polyvalence. Elles constituent un bon insecticide contre les Cochenilles de la Vigne (comme d'ailleurs les oléoparathions) et un bon agent de lutte contre les *Phyllocoptes*, agents de l'Acariose ou « court-noué parasitaire » dont de nombreux cas ont été signalés récemment dans le Sud-Ouest. Elles détruisent aussi les œufs de *Panonychus ulmi* KOCH. En outre, leur emploi constitue à l'heure actuelle l'un des meilleurs traitements contre l'excoriose (*Guignarda baccae*) ⁽¹⁾.

L'efficacité de ce traitement sur le gallicole n'a pas été absolue, cependant on peut attribuer une partie de la survie observée dans nos expériences au fait que la vigne en question fut traitée avant déchaussage et ainsi, malgré la précaution prise d'effectuer un lessivage soigneux des ceps, quelques œufs d'hiver (les œufs d'hiver étant pondus rappelons-le sur le vieux bois uniquement) ont pu échapper au traitement, protégés par des mottes de terre. Il nous paraît souhaitable en tous cas que de tels traitements soient pratiqués après déchaussage, quitte à effectuer celui-ci un peu tôt.

Concernant les traitements en végétation, nous avons mis en évidence que la remarquable efficacité des émulsions de lindane était à attribuer à la pénétration du

(1) Les doses de D. N. O. C. à mettre en œuvre dans un traitement spécifique contre l'Excoriose sont cependant sensiblement plus élevées.

produit à l'intérieur même des galles. Il n'en est rien au contraire du méthyl-parathion, ou même du méthyl-déméton, malgré le caractère endotherapique de ce dernier : ces deux produits sont tout juste doués d'une action de choc sur les jeunes insectes encore peu ou non abrités, mais n'ont pas eu d'action sur ceux demeurant encore (comme œufs ou larves) dans les galles primaires, si bien que ces derniers ont pu sortir et se développer normalement une fois passée cette action de choc. Il faudrait donc envisager plusieurs applications répétées à quelques jours d'intervalle, avec ces produits pour obtenir un résultat comparable à celui fourni par une seule ou, au plus, deux applications de lindane.

Il est difficile de préjuger quoi que ce soit quant au mode de pénétration du lindane dans la galle.

Notons cependant que le succès du traitement au lindane est tributaire de la date d'application, à laquelle il faut attacher une grande importance. Il faut considérer, pensons-nous, l'époque de la sortie des tous premiers jeunes gallicoles de première génération (20-25 mai pour la région du Sud-Ouest), comme une date limite postérieure. On a observé après le traitement plus tardif adjoint à l'essai n° 7, une bonne efficacité toujours du lindane, mais pourtant la survie de nombreux insectes et l'existence de nombreuses galles habitées d'une population largement suffisante pour « relancer » l'infestation étant donné la prolificité de l'Insecte. Plus qu'un défaut d'activité du produit, il faut mettre en cause ici le recroquevillement sur elles-mêmes des feuilles fortement infestées, une fois cette infestation bien établie : un certain nombre de cécidies se trouvent ainsi à l'abri et hors d'atteinte de l'insecticide. On risque donc, si l'application est trop tardive de se voir déborder par l'infestation et d'avoir à multiplier les interventions sans garantie d'ailleurs de succès, en raison d'une part de la crispation de plus en plus accentuée des feuilles et d'autre part de la continuité des éclosions après la première génération.

Les tentatives d'application directe de traitements au lindane, effectuées par plusieurs viticulteurs dès 1960, confirment l'efficacité pleine et entière de ces interventions précoces.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Des essais de lutte chimique ont été entrepris en 1959 et 1960 contre le Phylloxéra gallicole dans un vignoble d'hybrides producteurs directs 18-315 SV.

1° — Le traitement en cours de repos de la végétation avec une spécialité comportant 45 p. 100 d'huile d'anthracène et 10 p. 100 de D. N. O. C. utilisée à 2 ou 3 p. 100, détruit la presque totalité des œufs d'hiver du Phylloxéra, conférant ainsi une très bonne protection au vignoble.

2° — Le lindane en émulsion à la dose de 12-15 g (ou de 24-30 g MA) par hectolitre, appliqué à raison d'un seul traitement peu avant la sortie des insectes de première génération, ou, au plus tard, lors de cette sortie, soit entre le 10 et le 15 mai environ pour la région de Sud-Ouest, détruit la totalité des insectes. Par précaution, un deuxième traitement peut-être appliqué dans les 8 jours suivant le premier.

Dans les mêmes conditions, le méthyl-parathion à 30 g de Ma par hl ou le méthyl-déméton à 50 g de MA par hl n'ont donné que des résultats médiocres, tout à fait insuffisants pour protéger le vignoble.

3° — La haute efficacité du lindane est à attribuer à la pénétration à l'intérieur même des cécidies foliaires (sans qu'il puisse être préjugé du mode de cette pénétration). Au contraire, le méthyl-parathion, et même le méthyl-déméton (malgré son activité endotherapique) semblent n'avoir qu'une action de choc passagère, sur les insectes peu ou non abrités lors du traitement.

4° — L'intérêt du traitement est mis en évidence : la perte de degré alcoolique dans les parcelles phylloxérées par rapport aux parcelles débarrassées de gallicoles, a pu être évaluée en 1959 à 2 degrés environ. La perte en poids, plus délicate à chiffrer, pourrait être de l'ordre de 10 p. 100 sinon plus.

Reçu pour publication le 15 novembre 1960.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CAGNE H., 1958. La lutte contre le Phylloxéra gallicole semble facile et économique. *Phytoma* n° 97, 19-20.
 CHABOUSSOU F., 1959. Essais de traitements de plein champ contre les œufs d'hiver de Tétranyques sur les arbres fruitiers. *Phyt. Phytopharm.*, **8**, 131-140.
 DALMASSO G., 1956. Lutte contre le Phylloxéra. — Rapport général pour l'Europe. — VIII. Congrès international de la Vigne et du Vin. *Bull. Off. Int. Vin.*, **29**, n° 308, 5-30.
 FREZAL P., 1948. Destruction des Phylloxéras gallicoles. *Ann. Inst. Agr. Serv. Rech. Exp. Algérie.*, **4**, fasc. 4, 1-8.
 GOTZ B., 1952. Die Bekämpfung der gallicolen von *Phylloxera vitifoliae* FITSCH. *Z. Pflkrankh.*, **59**, 5-6., 189-198.
 MAILLET P., 1957. Contribution à l'étude de la biologie du Phylloxéra de la vigne. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 11^{es} ser., 283-410.
 SCHVESTER D., 1959. Sur la nocuité du Phylloxéra gallicole. Incidence de traitements sur la récolte. *Rev. Zool. Agr. Appl.*, **58**, n° 10-12, 133-136.

NOTES DE PATHOLOGIE VÉGÉTALE

G. VIENNOT-BOURGIN.

*Laboratoire de Recherches de la Chaire de Pathologie végétale,
Institut national agronomique, Paris.*

L'année 1960 aura été marquée, dans son ensemble, par des périodes difficiles et délicates en ce qui concerne la prévision, l'exécution, et l'efficacité des traitements antiparasitaires accomplis dans les vergers. Une végétation souvent anormale, une floraison parfois capricieuse mais une nouaison exceptionnelle ont cependant fait que pommes et poires ont été abondantes dans la plupart des régions fruitières.

Du point de vue phytosanitaire, alors que les conditions douces du printemps ont favorisé le développement et l'extension de l'oïdium du Pommier, ceux de certains parasites dangereux sur les rameaux, les feuilles et les fruits, tels que les tavelures et le carpocapse, paraissent avoir été naturellement jugulés par suite de circonstances défavorables aux contaminations successives de la fin du printemps et de l'été. Un phénomène comparable a été constaté dans certains vignobles à l'égard

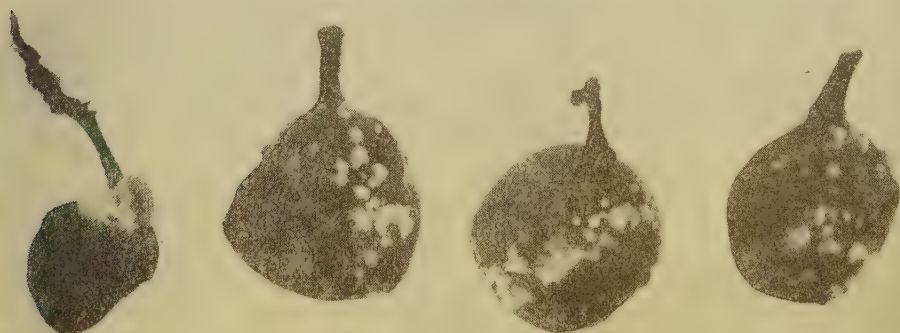


FIG. I. — Grains de raisin (Chasselas) atteints de pourriture provoquée par le *Monilia fructigena* (légèrement grossi, cliché P. BONDOUX).

du mildiou, qui fut relativement peu important après que l'oïdium eut causé des dommages sensibles dans beaucoup de régions.

Très schématiquement tracé, cet aspect de l'état sanitaire des plantations fruitières au cours de cette année, s'est cependant trouvé compliqué par l'apparition ou l'extension d'altérations encore mal connues, aux dépens du feuillage ou des fruits. Nous ne ferons que citer le développement considérable pris dans certains vergers par le fly-speck (*Leptothyrium pomi* Mont. et Fr.) Sacc. et la maladie de la suie (*Gloeodes pomigena* Schw.) Colby. Les travaux de ARNAUD et BARTHELET et ceux plus récents de LAFON et MESSIAEN montrent que ces deux champignons vivent normalement dans le verger, à la fois sur les rameaux des arbres fruitiers et sur un grand nombre d'arbres ou d'arbustes sauvages. Leur développement est surtout fonction d'un taux d'humidité qui ne doit pas rester inférieur à 90 p. 100.

Nous mentionnerons également l'apparition pour la première fois au monde, sur le raisin, d'une pourriture très particulière causée par le *Monilia fructigena* Pers., bien connue par ailleurs des arboriculteurs sous le nom de « moniliose » des arbres fruitiers à pépins et à noyaux. La maladie a été

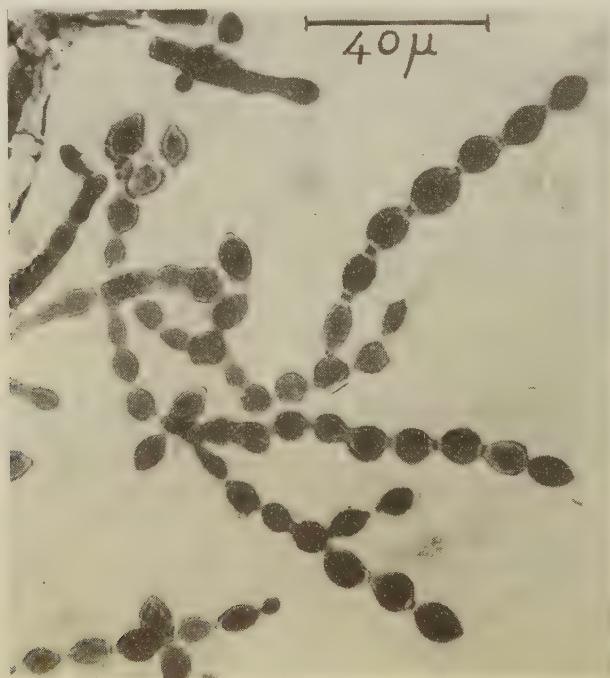


FIG. 2. — Fragment d'un coussinet conidifère de *Monilia* prélevé sur un grain de raisin (cliché P. BONDOUX).

observée par nous, vers la fin du mois d'août, aux environs de Paris sur le Chasselas cultivé en treille. Nous avons pu estimer à près de 10 kg les grappes ainsi pourries. Le parasite isolé en culture pure au laboratoire a été inoculé avec succès à des pommes qui ont présenté, 10 à 12 jours après, le facies de « rot-brun ».

* * *

Parmi les altérations du feuillage du Pommier et en particulier sur celui de la variété Golden Delicious, on a beaucoup parlé de « *Phyllosticta* ». Depuis la fin du printemps jusqu'à la mi-septembre de nombreux envois de feuilles marquées de taches brunâtres, souvent imprécises, ont été effectués au laboratoire. Des arboriculteurs, des agents du service de la Protection des végétaux, des techniciens des Sociétés fabriquant des produits fongicides se sont adressés à nous pensant avoir constaté les dommages du *Phyllosticta*. Aux dires de certains une maladie « nouvelle » des feuilles de Pommier semblait répandue en 1960. Il en a été fait mention lors du dernier Congrès Pomologique qui s'est tenu à Paris ; on la trouve décrite dans un article récent paru dans *Phytoma*. En raison de l'inquiétude qui s'est manifestée parmi les arboriculteurs et de l'imprécision qui règne quant à l'identification de certaines macules foliaires du Pommier, nous croyons devoir faire observer que :

1° de l'examen de plusieurs centaines de feuilles de Golden Delicious provenant des principales régions fruitières de France et prélevées depuis le mois de mai 1960 jusqu'au début d'octobre, seulement 3, expédiées des environs d'Angers, ont été reconnues marquées par le *Phyllosticta*. L'espèce a été déterminée comme étant le *P. prunicola* (Op.) Sacc.

Il s'agit de taches peu nombreuses, ovales ou arrondies, de 1 à 6 mm de diamètre, nettement délimitées par une marge. Celle-ci, très étroite, comporte de l'intérieur vers l'extérieur un fin liseré blanc pur correspondant au décollement de la cuticule, puis une bande circulaire brun-pourpre un peu diluée. Les taches sont sèches, brunâtres ou gris-argenté, à surface parfois ridée. L'examen au microscope montre qu'à partir des filaments mycéliens, grêles, à peine colorés, se forment des pycnides sphériques pourvues sous l'épiderme de l'hôte d'une ouverture (ou ostiole) régulièrement dessinée.

Les pycnides mesurent de 80 à 160 μ de diamètre. Leur paroi brun pâle, est constituée par un réseau mycélien à peine coloré comprenant des cellules polygonales de 15 à 20 μ de diamètre. Les spores sont produites tardivement et bien souvent on n'observe que des conceptacles vides. Ces spores sont ovoïdes, hyalines et mesurent 4 — 8 \times 2 — 3 μ . À pleine maturité le sommet de la pycnide comprime l'épiderme sans le crevasser ; la cuticule de la feuille se trouve soulevée et se présente comme une fine pellicule déchiquetée de part et d'autre de l'ostiole.



FIG. 3. — A : dispositions et dimensions relatives des taches apparues sur feuille de Pommier, variété Golden Delicious — B : lésions provoquées par *Phyllosticta prunicola* sur *Malus spectabilis* — C : détail de ces lésions permettant d'observer la conformation de la marge et la présence de pycnides — D : périthèce de *Mycosphaerella Tulasnei* trouvé sur feuille de Golden Delicious — E : asques et ascospores de *Mycosphaerella* — F : pycnides de *Phyllosticta prunicola* et pycniospores.

Sur le Pommier sont décrites 3 espèces de *Phyllosticta* :

P. Briardi Sacc., *mali* Prill. et Del. et *prunicola* (Op.) Sacc.

Des observations antérieures effectuées entre 1930 et 1945 dans les vergers de Grignon nous ont montré que le *P. Briardi* tel qu'il est connu par les termes de la diagnose (pycniospores mesurant 4,5 \times 1 — 2 μ) est très peu fréquent. Il ne nous a pas encore été donné de reconnaître le *P. mali* (pycniospores mesurant 6,5 — 8,5 \times 4 — 4,5 μ). Plusieurs fois nous avons trouvé *P. prunicola* tant sur les Pruniers sauvages et cultivés que sur l'Amandier et le Pommier. Sur le Pommier ce

parasite est toujours exceptionnel sur les variétés cultivées, nous l'avons surtout observé sur certaines espèces de collection ou d'ornement, principalement sur le *Malus spectabilis*.

2° En dehors des 3 feuilles porteuses d'altérations dues au *Phyllosticta*, les feuilles tachées qui ont été examinées se répartissent en deux lots :

a) Sur les unes récoltées en début de saison, on observe, éparses sur le limbe, ou quelquefois contiguës de part et d'autre de la nervure principale des taches desséchées, irrégulièrement anguleuses, souvent limitées par cette nervure et par les nervures secondaires, atteignant souvent 10 à 12 mm. de diamètre. La formation de ces taches est précédée d'une décoloration partielle de la feuille, mais ce symptôme initial n'est pas constant, demeure toujours fugace, et disparaît totalement par suite du brunissement uniforme de la tache. Les tissus altérés restent cohérents entre eux ; il n'y a ni rétraction tangentielle entraînant une déchirure, ni éclatement cuticulaire.

Par leurs dimensions et leur distribution générale, ces taches n'ont rien de comparable avec celles que provoquent les Bactéries phytopathogènes sur les feuilles des arbres fruitiers à noyaux et sur certains arbres fruitiers à pépins, en particulier sur le Cerisier et le Poirier (JOUANEAU). Par ailleurs, l'étude au binoculaire, puis au microscope ne révèle pas la présence d'un Champignon. Les parois des cellules tuées ne sont pas modifiées.

b) Sur les autres feuilles, altérées depuis plusieurs semaines, les taches ont pris leur aspect définitif assez comparable à ce qui précède quant à la forme générale, la distribution sur la surface du limbe et à la couleur, mais leur examen superficiel les distingue de celles du premier lot. En effet l'épiderme est marqué de petites mouchetures noires, très dispersées, faiblement proéminentes, ne provoquant pas de craquelures perceptibles. A partir du début d'août, l'aspect de ces ponctuations se complique de l'apparition de très petites macules noires, mates. L'examen microscopique de ces ponctuations définit que les premières correspondent tantôt aux amas mycéliens et aux conidio-phores de l'*Alternaria tenuis* Nees, tantôt à ceux du *Cladosporium herbarum* (Pers.) Lk. Les taches apparues plus tard sont constituées par un stroma provenant de la réunion de rameaux mycéliens au sein des parenchymes. A partir de ce stroma se différencient tardivement, vers la fin de septembre, des périthèces contenant des asques et des ascospores. La conformation des ascospores, ainsi que leurs dimensions ($16-30 \times 5-10 \mu$, moyenne : $21,5 \times 8$) nous ont permis de définir le *Mycosphaerella Tulasnei* (Jancz.) Lda. Ajoutons que les périthèces se caractérisent par leur forme globuleuse ou ventrue, la couleur brun-noir de la paroi qui est constituée par un pseudo-parenchyme serré dont les cellules, grossièrement polygonales, ont une membrane épaisse. Le grand diamètre des périthèces varie de 150 à 250 μ . A leur plein développement, ils présentent un ostiole irrégulièrement dilaté et font saillie sous la cuticule, ce qui explique l'apparition des petites taches noires, mates, observées soit à la loupe, soit même à l'œil nu.

Les 3 Champignons ainsi déterminés sont généralement considérés comme des saprophytes se comportant comme des moisissures aux dépens des matières végétales mortes. Du point de vue purement systématique, on doit remarquer que le *Cladosporium herbarum* ne constitue en fait que le stade jeune du *Mycosphaerella*, si bien que ce Champignon s'avère capable d'accomplir son cycle complet sur un tissu foliaire préalablement lésé.

C'est au *Cladosporium herbarum* que GRIFFON et MAUBLANC attribuent une pourriture des poires connue sous le nom de « bourre verte ». KIENHOLZ en 1944 a constaté la présence de nombreux périthèces de *Mycosphaerella* dans l'Orégon sur des feuilles de Pommier et de Poirier pourrissantes après l'hiver. Cet auteur rappelle que BALAKHONOFF a signalé, sur le littoral de la mer Noire un flétrissement des boutons floraux à la suite du développement du *Cladosporium herbarum* survenant au cours d'une période de brouillards persistants.

* * *

Les conclusions de ces observations sont de plusieurs ordres :

1. — l'enquête qu'il nous a été permis de faire précise que le *Phyllosticta Briardi* est en France un parasite exceptionnel des feuilles de Pommier. L'espèce de *Phyllosticta* quelquefois observée doit être rapportée à *P. prunicola*.

2. — On a constaté sur les feuilles de Pommier, principalement sur celles de la variété Golden Delicious, la formation des macules qui, lorsqu'elles sont comparées à celles du *Phyllosticta*, sont assez différentes par leur répartition et leurs dimensions. Mais la confusion reste possible. Elle ne peut être évitée que par l'examen attentif à différentes périodes de l'année, de l'aspect superficiel de ces taches et de la nature des appareils sporifères qui s'y produisent. En particulier la dimension diamétrale des conceptacles, même si ceux-ci ne sont pas mûrs, est un caractère certain de détermination entre les pycnides du *Phyllosticta* (espèce parasite) et les périthèces du *Mycosphaerella* (espèce se comportant en saprophyte ou au plus en parasite de faiblesse).

3. — Dans l'état actuel de nos recherches, il n'est pas possible d'attribuer les taches foliaires de Golden Delicious à une cause d'ordre parasitaire. Il semble que les conditions climatiques de 1960, qui ont marqué profondément sur le développement des principaux parasites du Pommier, aient

fait apparaître et se généraliser des troubles physiologiques en relation avec certaines difficultés d'adaptation de la variété aux conditions de sol et de climat dans notre pays. Cette hypothèse se justifie si l'on tient compte de la généralisation brutale des symptômes à une même variété et de la chute prématurée du feuillage dans certains cas.

Il est possible également que la formation de ces lésions résulte d'une cadence par trop soutenue dans l'application de traitements fongicides ou insecticides. Quoiqu'il en soit, l'installation et le développement de l'*Alternaria*, du *Cladosporium*, puis du *Mycosphaerella* n'interviennent qu'aux dépens de plages de tissus morts, bien délimitées au préalable.

* *

Des déterminations trop hâtives sont toujours nuisibles. Celles qui ne bénéficient pas de la rigueur scientifique et qui, de plus, aboutissent à laisser supposer l'apparition et l'extension brusque d'un parasite nouveau sont particulièrement regrettables. En admettant l'existence du *Phyllosticta*, certains arboriculteurs, mal conseillés, ont fait des traitements complémentaires en vue de protéger la récolte. Celle-ci s'est ainsi trouvée grevée d'un supplément de dépense d'autant plus préjudiciable que l'abondance des fruits rend aujourd'hui leur commercialisation difficile. En traitant avec des produits non adaptés faute d'expérimentation préalable, donc inefficaces, l'estime à l'égard de ces produits a pu se trouver temporairement diminuée.

Reçu pour publication le 30 novembre 1960

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) ARNAUD G., BARTHELET J., 1931. Une nouvelle maladie des pommes, le blotch fumex. *Rev. u. Path. Vég. Ent. Agr. Fr.*
- (2) LAFON R., MESSIAEN C. M., 1954. Biologie du fly-speck des pommes. *Ann. Epiph.*
- (3) PELHATE J., 1960. Observations phytopathologiques relatives à la saison 1959 dans la région de l'Ouest. *Phytoma*.
- (4) VIENNOT-BOURGIN G., 1949. *Les champignons parasites des plantes cultivées*, Masson, Paris.
- (5) JOUANEAU H., 1960. Observations sur l'intervention probable d'une Bactérie phytopathogène (*Pseudomonas syringae*) dans la genèse de certains accidents fréquemment observés sur Pommier, notamment sur la variété «Richared». *CR. Acad. Agric. Fr.*
- (6) GRIFFIN E., MAUBLANC A., 1911. Contribution à l'étude des maladies des pommes et des poires. *Ann. Inst. Nat. Agron.*
- (7) KIENHOLZ J. R., 1944. *Mycosphaerella Tulasnei* in apple and pear orchards. *Mycologia*.
- (8) BALAKHONOFF P. I., 1930. Note on the dying off of fruit tree blossoms on the black sea littoral in connection with fogs. *Bull. North Caucasian Plant Prot. Sta. (R. A. M., 10, 1931)*.

BIBLIOGRAPHIE

WILSON (G. F.). — **Horticultural pests. Detection and control.** 3^e éd.-rev by P. BECKER. London, Crosby Lockwood, 1960, 240 p.

Exposer en quelque deux cents pages la parasitologie des cultures florales, légumières et fruitières de nos régions tempérées sous une forme accessible au praticien est une entreprise difficile.

La troisième édition de ce petit livre témoigne du grand besoin d'ouvrages de ce genre.

On a su bannir les détails superflus, éviter la phraséologie inutilement savante, et ce sont là deux qualités trop rares pour ne pas les souligner avec force.

Une introduction, fort bien faite en tant qu'exposé des bases fondamentales de la parasitologie mais qui eût gagné à quelques développements délibérément moins élémentaires, est destinée à mettre en garde le lecteur peu averti contre les conclusions trop hâtives et trop unilatérales. Si tout l'essentiel y est bien dit, on peut cependant craindre que la concision poussée à l'extrême n'inculque des conceptions un peu trop schématiques et rigides. N'aurait-on pas dû profiter de l'introduction pour insister *d'avantage* sur les notions fondamentales de pathologie et de physiologie, sur l'influence décisive des conditions de culture et de production — c'est-à-dire de la physiologie — sur l'état sanitaire des cultures, sur le rôle enfin des parasites comme vecteurs des maladies ? Si l'on a bien fait de ne pas s'attarder à l'exposé des cycles biologiques, il est sans doute plus regrettable de passer à peu près complètement sous silence certaines de leurs applications pratiques dont l'utilité n'est plus à démontrer — telles que les avertissements —, et un ouvrage de cette nature ne devrait-il pas fournir au praticien les éléments qui lui permettraient d'interpréter et d'adapter à son cas particulier les conseils qu'il reçoit sous forme d'avertissement ?

Le corps du sujet est présenté d'une manière assez inattendue puisque la matière est groupée par organe du végétal et pour chaque organe selon les types de symptômes ; il faut recourir à un index pour retrouver dispersée dans l'ouvrage la culture qui nous intéresse. Il était tentant en effet de se servir de la symptomatologie comme base de classification. L'expérience prouve que les résultats ne sont pas aussi heureux qu'on pourrait le croire puisqu'ils se soldent par une composition confuse et touffue, donnant la désagréable impression d'un ouvrage manquant de structure et d'unité. Il naît, de plus, le danger que, malgré les mises en garde de l'introduction, on perde de vue la culture au profit de la plante et la plante au profit de l'organe. Cette présentation conduit naturellement à indiquer après chaque parasite les traitements dont il est justiciable ; mais n'est-ce pas là renforcer la trop fréquente tendance à oublier qu'il s'agit moins de traiter contre une maladie ou un parasite que de protéger une culture et que la vraie solution consiste non pas à traiter contre chaque parasite individuellement lorsque le mal est devenu apparent mais en l'établissement d'un calendrier de traitements judicieusement placés et choisis pour être réduits au minimum, systématiquement appliqués — avec les corrections éventuelles selon l'année et le lieu lorsque les avertissements le permettent — pour assurer la sécurité en toutes circonstances. Pour cela il faudrait présenter la matière par culture et pour chaque culture par parasite, en complétant éventuellement par un petit index symptomatologique ; l'ouvrage, malgré les apparences y gagnerait en maniabilité.

Ceci dit, ce petit livre surprend par sa densité et sa richesse ; il a le grand mérite d'être très complet, puisqu'il traite des plus petits parasites jusqu'aux plus gros (mammières et oiseaux), et l'on notera avec intérêt la place importante réservée à la nématologie.

Complété par d'abondantes illustrations — de qualité inégale —, le texte mériterait une présentation typographique mieux étudiée et plus aérée convenant aux ouvrages conçus pour servir de vade-mecum.

En résumé, un ouvrage destiné avant tout au vulgarisateur et au praticien, mais que tout pathologiste devrait bien connaître, très documenté et complet, mais dont la valeur pourrait être encore bien améliorée par une refonte totale de la présentation.

REITZ (L. P.) — **Biological and chemical control of plant and animal pests.** Washington, *Amer. Assoc. Adv. Sci.*, Publ. n° 61, 273 p., 1960.

Ce volume groupe de courtes notes rédigées par des spécialistes et se rapportant aux questions suivantes : Eradication de divers ennemis des plantes et des animaux domestiques, Lutte contre les maladies et les Insectes des forêts, Mesures d'information sur l'emploi des pesticides, de Contrôle de l'emploi des pesticides (problèmes des tolérances et résidus toxiques, Emploi de fongicides et de bactéricides contre les maladies des plantes, Lutte chimique contre les plantes adventices, Insecticides organophosphorés endotherapiques, Lutte chimique contre les parasites internes des animaux domestiques (140 réf. bibl.), Emploi des antagonismes comme principe de lutte contre les maladies des plantes, des nématodes, protozoaires, virus, champignons et bactéries contre les Insectes (41. réf. bibl.), Influence de la nutrition de la plante sur la faune phytophage (128 réf. bibl.), Lutte contre un Diptère nuisible au bétail (*Callitroga hominivorax* CQRL) par la stérilisation des mâles avec le Cobalt radioactif, Emploi des parasites et prédateurs des Insectes phytophages et des Insectes contre les plantes adventices, Influence des traitements fongicides et insecticides sur l'équilibre biologique dans les vergers de Pommier, Résistance aux maladies des animaux domestiques, Lutte contre les maladies et les Insectes nuisibles aux plantes par l'emploi de variétés résistantes.

L. B.

Imprimerie BUSSIÈRE à Saint-Amand (Cher), France. — 23-5-1961

Dépôt légal : 2^e trimestre 1961. N° d'impression : 659

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, PARIS-VII^e. Tél. : INV 41.09.

Directeur : H. FERRU

Conseil Supérieur de la Recherche Agronomique

Président M. le Ministre de l'Agriculture.
Vice-Président M. le Professeur LEMOIGNE, membre de l'Institut.

Comité Permanent de la Recherche Agronomique

Président M. le Professeur LEMOIGNE.
Membres MM. les Professeurs BRESSOU, TERROINE.
Le Directeur de l'Institut National de la Recherche Agronomique,
L'Inspecteur général de la Recherche Agronomique,
Les Directeurs centraux de Recherches.

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : M. BUSTARRET, Inspecteur général de la Recherche Agronomique.
Agronomie. — M. BOISCHOT, Directeur de la Station centrale d'Agronomie.
Physiologie Végétale. — M. COÏC, Directeur de la Station centrale de Physiologie végétale.
Amélioration des Plantes. — M. MAYER, Directeur de la Station centrale de Génétique et Amélioration des Plantes.
Épiphyties. — M. DARPOUX, Directeur de la Station centrale de Pathologie végétale,
M. TROUVELOT, Directeur de la Station centrale de Zoologie agricole,
M. VIEL, Directeur du Laboratoire de Phytopharmacie.
Abeille. — M. CHAUVIN, Directeur de la Station de Recherches apicoles de Bures-sur-Yvette.
Zootchnie. — M. A.-M. LEROY, Professeur à l'Institut National Agronomique,
M. FÉVRIER, Directeur de la Station de Recherches sur l'Élevage,
M. PÉRO, Directeur de la Station de Recherches avicoles.
Technologie agricole. — M. FLANZY, Directeur de la Station centrale de Technologie des produits végétaux,
M. MOCQUOT, Directeur de la Station centrale de Technologie des produits animaux.
Biologie animale, Biochimie, Biophysique. — M. FRANÇOIS, Directeur du Service de Biochimie et de Nutrition,
M. THIBAUT, Directeur de la Station de Physiologie animale.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION :

149, rue de Grenelle, PARIS-VII^e, Tél. : INV 41.09.

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1961

	FRANCE	ÉTRANGER	LE N°
AGRONOMIE.....	50 NF	56 NF	9,50 NF
PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE.....	30 NF	34 NF	8 NF
AMÉLIORATION DES PLANTES	35 NF	39 NF	9,50 NF
ÉPIPHYTIES.....	35 NF	39 NF	9,50 NF
ABEILLE.....	20 NF	22 NF	6,50 NF
ZOOTCHNIE	40 NF	44 NF	11 NF
TECHNOLOGIE	35 NF	39 NF	9,50 NF
BIOLOGIE ANIMALE	40 NF	44 NF	11 NF

Chaque demande de changement d'adresse doit être accompagnée de 0,40 NF en timbres-poste.

Les demandes d'abonnements doivent être adressées au Régisseur des Publications de l'Institut National de la Recherche Agronomique, 149, rue de Grenelle, PARIS-VII^e. C. C. P. : PARIS, 9064-43. Elles peuvent être également souscrites par l'intermédiaire de libraires dans les conditions habituelles.

TABLE DES MATIÈRES

J. GRENTE. — La maladie de l'Encre du Châtaignier. I. Étiologie et Biologie.....	5
J. GRENTE. — La maladie de l'Encre du Châtaignier. II. Les agents pathogènes : <i>Phytophthora cambivora</i> et <i>P. cinnamomi</i>	25
J. GRENTE, S. SAURET. — Épreuve de la résistance à l'Encre et à l' <i>Endothia</i> sur des cultures de tissus de clones de Châtaignier	61
J. GRENTE. — Observations sur le comportement des plants de Châtaignier après inoculation de l' <i>Endothia parasitica</i>	65
P. MOLOT. — Un nouvel <i>Helminthosporium</i> sur maïs dans le bassin parisien. Aspect pratique de la question.....	71
C. GROSCLAUDE. — Le plomb des arbres fruitiers.....	75
C. GRISON, C. MARTIN. — Contribution à l'étude du comportement des virus des végétaux chez leurs hôtes hypersensibles.....	89
J. MARROU. — Effet de mesures prophylactiques simples sur la dissémination du virus de la mosaïque de la Laitue en culture grainière et sur la transmission de ce virus par la graine.	95
D. SCHVESTER. — Contribution à la mise au point de méthodes de lutte chimique contre la forme gallicole du Phylloxera de la Vigne, <i>Phylloxera vitifolii</i> Fitch	101
G. VIENNOT-BOURGIN. — Notes de Pathologie végétale....	115
BIBLIOGRAPHIE.....	121